Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

ANTIKÖRPER DER IGG- UND IGM-KLASSE IM VERLAUF UND NACH BEHANDLUNG EXPERIMENTELLER TRYPANOSOMA EVANSI (STEEL, 1885) INFEKTIONEN BEI KAMELEN (CAMELUS DROMEDARIUS) IN KENIA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter-Henning Clausen
Tierarzt aus Husum

Berlin 1986
Journal-Nr. 1300

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549614_0021

Druck: Copy-Center in Dahlem
Ladenbergstraße 2-4
1000 Berlin 33
Tel. 831 40 25

Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

ANTIKÖRPER DER IGG- UND IGM-KLASSE IM VERLAUF UND NACH BEHANDLUNG EXPERIMENTELLER TRYPANOSOMA EVANSI (STEEL, 1885)-INFEKTIONEN BEI KAMELEN (CAMELUS DROMEDARIUS) IN KENIA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter-Henning Clausen
Tierarzt aus Husum

Berlin 1986
Journal-Nr. 1300

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof. Dr. F. Hörchner

Erster Gutachter: Prof. Dr. F. Hörchner
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. H.-J. Risse

Tag der Promotion: 10. Oktober 1986

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Bedeutung der Kamelhaltung für den ariden und semiariden Norden Kenias	3
2.2	Die Trypanosoma evansi-Infektion der Kamele (Camelus dromedarius)	6
2.2.1	Ätiologie und Epidemiologie	6
2.2.2	Parasitologie und Klinik	9
2.2.3	Hämatologische Veränderungen	11
2.2.4	Besiedlung extravaskulärer Räume unter besonderer Berücksichtigung des Zentralen Nervensystems (ZNS)	12
2.2.5	Humorale Immunantwort	15
2.3	Bekämpfung	19
2.3.1	Chemotherapie und -prophylaxe	19
2.3.2	Ursachen für den Wirkungsverlust eines Trypanozides	24
2.4	Diagnose	26
2.4.1	Parasitologischer Nachweis	26
2.4.2	Serologische Diagnosetechniken	28
2.5	Kamel (Camelus dromedarius)	35
2.5.1	Klinische und hämatologische Daten	35
2.5.2	Liquorparameter	38
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	39
3.1	Material und Methoden	39
3.1.1	Versuchstiere	39
3.1.2	Erreger	41
3.1.3	Versuchsanordnung	42
3.1.4	Mäuse-Sensitivitätstest	43
3.1.5	Klinische Untersuchung	44
3.1.6	Parasitennachweis und Hämatologie	45

3.1.7 Liquor cerebrospinalis: Entnahme und Untersuchung 47
3.1.8 Fraktionierung von Kamel-Immunglobulinen 50
3.1.9 Antiserumgewinnung in Kaninchen 55
3.1.10 Peroxidase-Konjugation 58
3.1.11 Antikörper im Serum und im Liquor cerebrospinalis im ELISA 59
3.2 Ergebnisteil 63
3.2.1 Parasitologische Befunde 63
3.2.2 Klinischer Verlauf 64
3.2.3 Hämatologische Veränderungen 70
3.2.4 Antikörperantwort im Serum 89
3.2.5 Veränderungen in dem Liquor cerebrospinalis 98

4 BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 117
4.1 Experimentelle Trypanosoma evansi-Infektion bei Kamelen 117
4.2 Besiedlung extravaskulärer Räume, Chemotherapie und Relapse 128
4.3 Serodiagnose über den Verlauf trypanosomen-spezifischer Antikörper 131

5 ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY 133

6 LITERATURVERZEICHNIS 137

7 ANHANG 154

1 EINLEITUNG

Die Trypanosomiasis ist die bedeutendste und verlustreichste Erkrankung der Kamele. Sie tritt gegenwärtig im gesamten Verbreitungsgebit der Dromedare in Afrika und Asien auf (CROSS, 1917; CURASSON, 1947; RICHARD, 1975).

In den Tsetse-freien Gebieten wird die Trypanosomiasis der Kamele durch Trypanosoma evansi verursacht, da dieser Hämoflagellat sich in seiner Phylogenese von einer obligatorisch zyklischen Entwicklung in der Tsetsefliege an eine rein mechanisch, alimentäre Übertragung durch hämatophage Dipteren adaptierte.

Da zum gegenwärtigen Zeitpunkt eine belastbare Immunisierung nicht in Sicht ist, eine Kontrolle des erweiterten Vektorenspektrums als aussichtslos erscheint und aufgrund der traditionellen Lebensweise der Hirtennomaden ein Kontakt mit Reservoirwirten nicht zu vermeiden ist, kommt der Chemotherapie große Bedeutung zu.

Sozioökonomische Faktoren - Subsistenzwirtschaft, unterentwikkelter Markt, fehlende veterinärmedizinische Infrastruktur, begrenztes Interesse der pharmazeutischen Industrie an der Entwicklung und Produktion neuer Trypanozide - aber auch biologische Besonderheiten - tierartspezifische Toxizität von Berenil, geringer Effekt verschiedener Trypanozide für T.evansi, bedrohliche Resistenzentwicklung - führten zu einer ernsten Situation in der Chemotherapie, die dringend neue Trypanozide erfordert.

Die heute in der Veterinärmedizin eingesetzten Trypanozide passieren aufgrund ihrer Bindung an Serumproteine und/oder ihrer starken Polarität biologische Grenzmembranen nicht oder nur unzureichend. In extravaskuläre Räume wie z.B. den Liquor cerebrospinalis- oder Synovialraum ausgewanderte Trypanosomen

werden darum von diesen Medikamenten nicht eliminiert und können zu einem Relapse führen.

Die Besiedlung extravaskulärer Räume, aber auch die in der chronischen Phase der Erkrankung zu erwartenden, weniger stark ausgeprägten Parasitämien erschweren zudem einen direkten Erregernachweis.

Mir wurde darum die Aufgabe übertragen,

- während einer experimentellen T.evansi-Infektion bei Kamelen die verschiedenen klinischen, parasitologischen und hämatologischen Parameter zu erfassen,

- den Liquor cerebrospinalis auf eine parasitäre Besiedlung zu untersuchen und damit einhergehende biochemische und zytologische Reaktionen zu bestimmen,

- die Kamele mit einem liquorgängigen Trypanozid (Melarsoprol, Arbsobal^{R}, SPECIA) und einem nichtliquorgängigen Trypanozid (Suramin, Naganol^{R}, BAYER) zu behandeln,

- tierart- und klassenspezifische Antiseren herzustellen,

- den Therapieerfolg über den Verlauf trypanosomen-spezifischer Antikörperspiegel der IgG- und IgM-Klasse im Serum und Liquor cerebrospinalis mit dem Ziel einer verbesserten Serodiagnose zu überprüfen.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Die Bedeutung der Kamelhaltung für den ariden und semiariden Norden Kenias

Die Kamelpopulation wird von der FAO für 1982 mit annähernd 17 Millionen angegeben (FAO-PRODUCTION-YEARBOOK, 1982). Von ihnen entfallen ca. 15 Millionen auf die Art Camelus dromedarius oder einhöckriges Kamel und ca. 2 Millionen auf die Art Camelus bactrianus oder zweihöckriges Kamel. Während die Verbreitung des Camelus bactrianus sich auf Zentralasien beschränkt, findet sich Camelus dromedarius vorwiegend in den ariden und semiariden Gebieten des nördlichen Afrikas und Asiens.

Die Dromedarpopulation in Afrika wird auf 12,5 Millionen geschätzt; mit 5,6 Millionen in Somalia, 2,5 Millionen im Sudan, 1 Million in Äthiopien, 800.000 in Mauretanien und 610.000 in Kenia, der fünftgrößten Herde Afrikas (FAO-PRODUCTION-YEARBOOK, 1982). Somit befindet sich in Kenia und seinen nördlichen Nachbarländern Somalia, Äthiopien und Sudan ca. 80% der Kamelpopulation Afrikas.

Während in einigen Ländern, wie dem Iran, die Kamelpopulation zurückgegangen ist, gehört Kenia zu den Ländern, in denen die Herdengröße gestiegen ist. In den letzten 20 Jahren konnte sich die Kamelpopulation in Kenia nahezu verdoppeln.

Die Bedeutung der Kamele erklärt sich durch ihre bemerkenswerte "adaptive Physiologie" für aride und semiaride Klimazonen. Erste diesbezügliche Untersuchungen wurden von 1954-55 von Schmidt-Nielsens und Mitarbeitern veröffentlicht. Später folgten die Studien von Charnot in Marocco, Mac Farlame in Australien und Maloiy in Kenia. (GAUTHER-PILTERS und DAGG, 1981)

Mehr als 60% von Kenias gesamter Landfläche, überwiegend nördlich des Äquators, besteht aus Dornen- und Trockensavanne mit weniger als 400 mm Niederschlag im Jahr. Diese Gebiete erlauben nur extensive Formen der tierischen Produktion. Durch seine Toleranz gegenüber langen Tränkeintervallen und seine spezifische Futterpräferenz ist das Kamel wie kein anderes Haustier geeignet, solche Gebiete zu nutzen (SCHWARTZ et al., 1982).

Der überwiegende Anteil der Kamele im ariden und semiariden Norden Kenias befindet sich im Besitz von Hirtennomaden. Zu ihnen zählen die Gabbra und Rendille im Norden und die Somali im Nordosten. Obwohl die Turkana im Nordwesten und einige Samburu und Pokot auch über Kamele verfügen, spielen Kamele für sie jedoch nicht die zentrale Rolle, wie für die Gabbra, Rendille und Somali (FIELD, 1984).

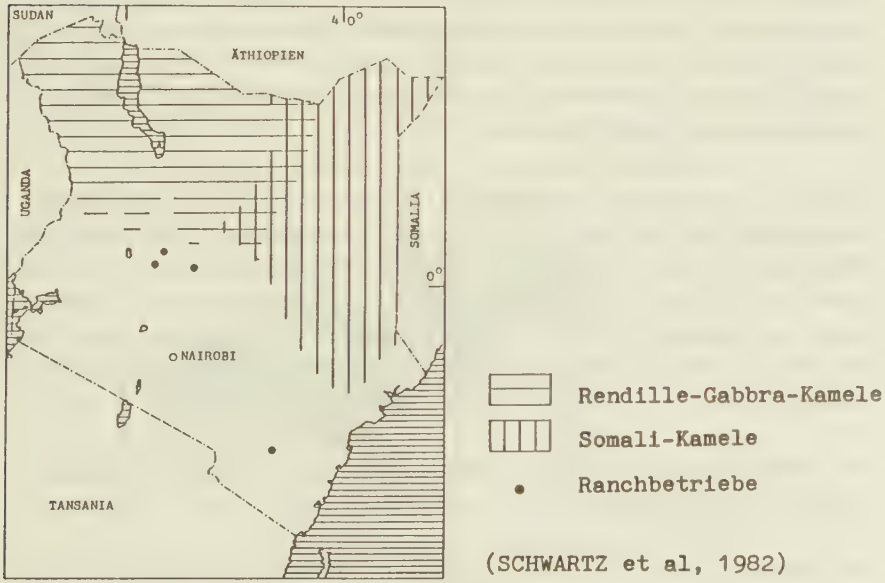
Die Gabbra, Rendille und Somali nutzen die Tiere primär zur Milchproduktion und zum Transport von Wasser, Brennholz und für andere Lasten auf ihren Wanderungen.
Kamele sind für die Subsistenzwirtschaft dieser Stämme von außerordentlicher Bedeutung, da sie auch in Trockenzeiten und Dürreperioden im Gegensatz zu Rindern, Schafen und Ziegen zuverlässig Milch erzeugen (SCHWARTZ et al., 1982). So produziert ein Rendillekamel in der Trockenzeit noch soviel Milch, wie vier Samburukühe in der Regenzeit zusammen (SPENCER, 1973).

Die in Subsistenz tradierten Hirtennomaden schlachten Kamele nur zu besonderen Anlässen. Steigende Bedürfnisse veranlassen die Hirtennomaden jedoch auch zum Verkauf von Schlachttieren.

BREMAUD berichtete schon 1969 von einem blühenden Schwarzhandel von 600-1000 Schlachttieren monatlich von Kenia nach Somalia. In Somalia sollen 15.000 Kamele (Leupold, zitiert von SHALASH, 1984) und in Ägypten 64.000 Kamele (ALIM , 1976)

jährlich geschlachtet werden. Äthiopien und Sudan exportieren Kamele nach Ägypten, Libyen und Saudi-Arabien.

Der nahe arabische Markt, aber auch die steigende Nachfrage nach Kamelfleisch auf einigen lokalen Märkten veranlaßte einige Farmer in Kenia zur Aufstockung ihrer extensiven Ranchbetriebe mit Kamelen.
Da Kamele vorzugsweise Büsche und Bäume beweiden und nicht mit Rindern und Schafen im Wettbewerb um das Gras stehen, konnte die Flächenproduktivität ihrer Betriebe angehoben werden (SCHWARTZ et al., 1982; EVANS und POWYS, 1984).
Die folgende Karte zeigt die Verteilung der beiden Hauptkameltypen in Kenia und den Standort der kommerziellen Ranchbetriebe mit Kamelhaltung.



(SCHWARTZ et al, 1982)

2.2 Die Trypanosoma evansi-Infektion der Kamele (Camelus dromedarius)

2.2.1 Ätiologie und Epidemiologie

In den Tsetse-freien Gebieten wird die Trypanosomiasis der Kamele fast ausschließlich durch Trypanosoma evansi verursacht.

In diesen Gebieten sind auch Pferde und Hunde besonders gefährdet, während bei Wiederkäuern die T.evansi-Infektion angeht, meist aber keinen deutlichen Krankheitsverlauf verursacht. Wiederkäuer, vermutlich aber auch Esel, haben sicher eine Bedeutung als Reservoirwirte.

Trypanosoma evansi wird dem Subgenus TRYPANOZOON zugeordnet und läßt sich morphologisch von anderen Trypanosomenspezies dieser Gruppe nicht differenzieren.
Es bestehen jedoch Unterscheidungsmerkmale zwischen den einzelnen Trypanosomenspezies dieser Gruppe, so z.B. in biologischer Hinsicht, die für die Ätiologie und Epidemiologie von entscheidender Bedeutung sind.

Während Trypanosoma (TRYPANOZOON) brucei nach einer zyklischen Entwicklung in der Tsetsefliege beim Stechakt mit dem Speichel übertragen wird, kann Trypanosoma (TRYPANOZOON) evansi durch einen unterbrochenen Saugakt eines Hämatophagen rein mechanisch von einem Tier aufs andere überimpft werden. Es kommt zu keiner zyklischen Entwicklung von Trypanosoma evansi in der Tsetsefliege.

Von HOARE (1956) wird die Annahme vertreten, daß T.evansi phylogenetisch auf T.brucei zurückzuführen ist.

Der Vektorwechsel soll in Kamelen stattgefunden haben. Jahrhunderte diente das Kamel im nördlichen Afrika und dem Nahen Osten als Transportmittel.

Obwohl aufgrund der Tsetsefliegen gemieden, kam es sicher in einzelnen Fällen auch zum Eindringen von Kamelkarawanen in den Tsetsegürtel und zu Infektionen einzelner Tiere mit Trypanosoma brucei. Bei der Rückkehr in Tsetse-freie Gebiete wurden diese T.brucei-Stämme dann durch Tabaniden mechanisch unter Kamele verbreitet, wobei sie an eine mechanische Übertragung adaptierten. Sie verloren die Eigenschaft zur zyklischen Entwicklung in der Tsetsefliege und nahmen alle Kriterien an, die heute T.evansi definieren.

Unterstützung findet Hoares-Hypothese durch isoenzymatische Charakterisierungen (GIBSON et al., 1983). GIBSON et al. beschreiben, daß sich in Kenia isolierte T.evansi-Stämme nur durch das Fehlen einer Peptidase-Bande von westafrikanischen T.brucei-Stämmen unterscheiden. Bei einem T.evansi-Stamm (KETRI 2477) ist eine vollständige elektrophoretische Übereinstimmung mit einem T.brucei-Stamm (Zymodem 41) aus Liberia vorhanden (GIBSON et al., 1980).

Die folgende Abbildung zeigt die geographische Verbreitung von T.evansi und Kamelen in der Alten Welt (HOARE, 1957).

Verbreitung der Kamele; Verbreitung von T. evansi

In Ländern ohne Kamelhaltung wurden Pferde zum Hauptwirt. Mit der Eroberung Mittel- und Südamerikas durch die spanischen Konquistadoren im 16. Jh. fand T.evansi durch die Einfuhr arabischer Pferde auch den Weg in die Neue Welt (HOARE, 1957).
So haben T.evansi-Stämme aus Südamerika, Nigeria, Sudan, Kenia und Kuwait ein homogenes Isoenzyme-Muster und gleichen im Muster sehr stark westafrikanischen T.brucei-Stämmen (GIBSON et al., 1983).

Die besondere Bedeutung der Kameltrypanosomiasis für Länder mit nennenswerten Kamelpopulationen ist allgemein anerkannt (TOURATIER, 1986). Wissenschaftliche Informationen über ihre Epidemiologie finden sich jedoch nur in wenigen Publikationen.

Im südlichen Äthiopien wurden Untersuchungen auf patente Infektionen durch Abimpfung von Kamelblut auf Mäuse durchgeführt. Die Infektionsrate betrug 36,5% (PEGRAM und SCOTT, 1976). In der Provinz Kassala, Sudan, waren 5,5% der untersuchten Kamele (11/199) im gefärbten Blutausstrich parasitologisch positiv. 66,8% der Tiere (133/199) hatten trypanosomenspezifische Antikörper der IgG-Klasse im Serum (BOID et al., 1981). Durch Überimpfen von Jugularvenenblut auf Ratten von 145 Kamelen im Norden Nigerias konnte in 40 Tieren (27,6%) eine Trypanosomeninfektion nachgewiesen werden (GODFREY und KILLICK-KENDRICK, 1962).
Kazanskii und Antipin berichten vom Vorkommen von T.evansi-Infektionen in Trampeltieren (Camelus bactrianus) in der Sowjet-Union (zitiert von RUTTER, 1967). 1907 wurde T.evansi auch bei Kamelen in Australien diagnostiziert. Die Kamele befanden sich zur Einfuhr aus Indien in Quarantäne und wurden getötet. Spätere Fälle von T.evansi-Infektionen sind nicht bekannt (RUTTER, 1967).

2.2.2 Parasitologie und Klinik

Nach RUTTER (1967) nimmt die Trypanosoma evansi-Infektion der Kamele im allgemeinen einen chronischen Verlauf und ist charakterisiert durch remittierendes Fieber, Anämie und Kachexie. Nicht selten sterben die Kamele im ersten oder zweiten Jahr der Erkrankung, in anderen Fällen überleben die Tiere drei oder vier Jahre.
Akute Fälle sind charakterisiert durch persistierendes Fieber. Die Trypanosomen sind fast täglich im peripheren Blut nachzuweisen und die Kamele sterben oft schon nach wenigen Wochen.

KNOWLES (1927a) beschreibt akute, sub-akute und chronische Verlaufsformen. Bei einem geringen Prozentsatz der Tiere soll Selbstheilung eintreten.
Subakut erkrankte Kamele hatten eine erhöhte Temperatur und Parasiten ließen sich in Intervallen von 10-20 Tagen im Blut nachweisen. Bei guter Fütterung und in Ruhe war die Kondition der Tiere nur geringgradig beeinträchtigt. Ungenügendes Futterangebot, harte Arbeit oder Belastungen durch Sekundärinfektionen wie z.B. Räude können zur Überleitung in eine akute Verlaufsform führen.
Chronisch kranke Tiere haben eine partielle Immunität gegen Trypanosomen. Die Kamele sind in gutem Ernährungszustand und können zu harter Arbeit herangezogen werden. Trypanosomen lassen sich im Blut nur selten nachweisen. Ein Parasitennachweis ist nicht immer mit einem Temperaturanstieg begleitet.
Bei den sogenannten geheilten Tieren handelt es sich wahrscheinlich um chronisch erkrankte Kamele, bei denen Trypanosomen im Körpergewebe persistieren. Sollte sich die Resistenzlage dieser Tiere verschlechtern, kann es zu einer Rückbesiedlung der peripheren Blutbahn mit erneuter Parasitämie kommen.

Ruhe und gutes Futterangebot haben einen begünstigenden Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung (MASON, 1911).

Akute Fälle werden sehr oft von den Kamelhaltern an den klinischen Symptomen erkannt. Die Kamele verringern ihre Futteraufnahme, werden schwerfällig und träge und verlieren an Gewicht. Es kann zur Ausbildung von sukutanen Oedemen am Unterbauch kommen. Tragende Muttertiere können ihre Frucht verlieren.
Es ist fraglich, ob die Tierhalter auch die subakut- oder chronisch kranken Tiere in der Herde erkennen können. Bei diesen Kamelen kommt es zu einem kontinuierlichen Konditionsverlust mit einer Rückbildung des Höckers. Das Haarkleid wird rauh und die Haut schorfig und schuppig und anfällig für Zekken und Räudemilben.
Im späteren Stadium einer klassichen Erkrankung kann es zu einer ikterischen Verfärbung der sichtbaren Schleimhäute mit Ausbildung von Petechien kommen.
Schwer chronisch erkrankte Kamele werden anfällig für Sekundärinfektionen, insbesondere für Pneumonien (HIGGINS, 1983).

In einer Zuchtherde gehäuft auftretende Aborte sprechen für Trypanosomeninfektionen. Nach LEESE (1927) ist Trypanosomiasis die bei weitem bedeutendste Abortursache bei Kamelen.

Über experimentelle Trypanosoma evansi-Infektionen finden sich in der Literatur nur wenige Angaben.
LEESE (1927) konnte zwei Kamele mit Blut von Kamelen infizieren, die an Trypanosomiasis erkrankt waren. RAISINGHANI und LODHA (1980) infizierten neun Kamele mit 6×10^7 Trypanosomen intravenös (i.v.). Bei allen Tieren ging die Infektion an und die Präpatenz, diagnostiziert anhand des erstmaligen Parasitennachweises im gefärbten Blutausstrich, betrug zwischen 48 und 96 Stunden ($\bar{x}$ = 73 h). Die Tiere entwickelten einen subakuten bis chronischen Infektionsverlauf. Von den neun Tieren starben sechs Tiere nach drei bis elf Monaten. Als klinische Veränderungen werden Abmagerung, Alopezia, Rückbildung des subkutanten Fettgewebes und Fascialoedeme aufgeführt. Bei einem Tier kam es zur Trübung der Kornea.

2.2.3 Hämatologische Veränderungen

Übereinstimmend wird in der Literatur über das Auftreten einer schweren Anämie während einer natürlichen oder experimentellen T.evansi-Infektion bei Kamelen berichtet (CURASSON, 1947; RUTTER, 1967; JATKAR und PUROHIT, 1971; RAISINGHANI et al., 1981).

JATKAR und PUROHIT (1971) infizierten 20 indische Kamele mit T.evansi. Im Versuchszeitraum, über dessen Länge keine Angaben gemacht werden, fiel das mittlere gepackte Zellvolumen (PCV) von 28% auf 21%, die Zahl der Erythrozyten (RBC 1 x 10^{12}/l) verminderte sich von 9,83 auf 4,52. Die Hämoglobinkonzentration (Hb, g/dl) senkte sich von 12,5 auf 6,34.

RAISINGHANI et al. (1981) infizierten neun Kamele. Innerhalb von 88 Tagen fiel das mittlere gepackte Zellvolumen (PCV) von 30% (±0,4) auf 16% (±0,2). Der mittlere Hämoglobingehalt verminderte sich von 10,22 (±0,2) auf 5,31 (±0,3).

Angaben über Veränderungen im weißen Blutbild einer T.evansi-Infektion finden sich bei KALTENBACH (1954) und JATKAR und PUROHIT (1971).
In natürlich infizierten Kamelen im Iran beobachtete KALTENBACH eine Leukozytose. In ihren Untersuchungen in experimentell infizierten Kamelen in Indien ermittelten JATKAR und PUROHIT (1971) einen Anstieg der Leukozytenzahl (WBC, 1 x 10^{9}/l) von 17,18 auf 23,73. Im Differentialblutbild beobachtete KALTENBACH als auffälligste Erscheinung einer Trypanosomeninfektion eine Erhöhung des Kernverschiebungsindexes (KVI). Unter den Lymphozyten traten die großen Formen gegenüber den kleinen Zellen in den Vordergrund. Während KALTENBACH keine Veränderung im Verhältnis neutrophile Granulozyten/Lymphozyten (N/Ly) erkannte, berichteten CURASSON (1947), PEGRAM und SCOTT (1976) jedoch von einer deutlichen Lymphozytose im Verlauf von T.evansi-Infektionen bei Kamelen.

2.2.4 Besiedlung extravaskulärer Räume unter besonderer Berücksichtigung des Zentralen Nervensystems (ZNS)

Wie schon berichtet, vermutete bereits KNOWLES (1927a) die Persistenz von Trypanosoma soudanense (= T.evansi) in extravaskulären Räumen von sogenannten geheilten, klinisch gesunden Kamelen.

RÖTTCHER (1984, persönl. Mitteilung) konnte in der Cerebrospinalflüssigkeit von Kamelen vereinzelt Trypanosomen nachweisen. Neben dieser Beobachtung finden sich in der Literatur keine Angaben über eine Darstellung von Trypanosomen in extravaskulären Räumen von Kamelen.

Dagegen ist der Nachweis von T.evansi im Liquor cerebrospinalis von Pferden (YUTUC, 1936; KRANEVELD und DJAENOEDIN, 1949; HÖRCHNER et al., 1983; GEILER, 1984), Hunden (GEILER, 1984) und Kaninchen (HÖRCHNER et al., 1984) beschrieben worden. YUTUC (1936) fand bereits 9 Tage p.i. HÖRCHNER et al. (1983) 25 Tage p.i. Erreger im Liquor cerebrospinalis von Pferden.

Bei Pferden, die an einer natürlichen T.evansi-Infektion verendet waren, konnten SEILER et al. (1981) eine generalisierte, nichteitrige Meningoencephalitis der grauen und weißen Substanz erkennen. Die perivaskulären Räume der cerebralen Gefäße zeigten eine starke Invasion mononukleärer Zellen.

Unmittelbar post mortem konnte im Kammerwasser der vorderen Augenkammer von experimentell infizierten Pferden T.evansi nachgewiesen werden (HÖRCHNER et al., 1983).

Desweiteren werden schon makroskopisch erkennbare Muskelveränderungen beschrieben. Nach LOPPNOW (1979) stellen sie sich histologisch teilweise in Form einer geringgradigen Myositis, teilweise aber in einer hochgradigen scholligen Degeneration der Muskelfasern dar, wobei Organisationsherde in Reparation

befindlicher Fasern zu erkennen sind. Regelmäßig werden in den zerstörten Sarkolemschläuchen Trypanosomen nachgewiesen.

Ähnliche Befunde werden auch von Infektionen mit anderen Trypanosomen des Subgenus Trypanozoon beschrieben.

So berichtet MOTT bereits 1899 über das Auftreten einer Meningoencephalitis bei Schlafkrankheitspatienten. Der erste Nachweis von Trypanosomen in der Cerebrospinalflüssigkeit von Schlafkranken gelang Castellani gegen Ende 1902 in Uganda (KOCH, 1909).

Die in den letzten Jahren durchgeführten experimentellen Untersuchungen zur Pathogenese der T.brucei-Infektion zeigen insgesamt ein ähnliches Bild:
Starke Gewebsinvasion bei Hunden, mit dem Spätstadium der Schlafkrankheit übereinstimmende pathologische Veränderungen am ZNS bei Rindern (MORRISON et al., 1983), Besiedlung des ZNS von Ziegen (WHITELAW et al., 1985), cerebrale Trypanosomisais bei Rindern nach einer Infektion von T.congolense und T.brucei (MASAKE et al., 1984).

Infolge der von verschiedenen Autoren ähnlich beschriebenen pathologischen Befunde kann die Pathogenese der cerebralen Trypanosomiasis kurz umrissen werden.

FINK und SCHMIDT (1979) wählten als Modell für die cerebrale Trypanosomiasis mit T.b.rhodesiense-infizierte Mäuse und Affen. Aufbauend auf ihre parasitologischen und neurohistologischen Befunde handelt es sich nach SCHMIDT (1983) bei der cerebralen Trypanosomiasis um einen fortschreitenden entzündlichen Prozeß, der über eine chronische Meningitis (Phase 1) und frühe encephalitische Reaktion (Phase 2) zur Meningoencephalitis (Phase 3) führt.

Der entzündliche Prozeß soll seinen Ausgang nehmen mit einer Besiedlung des Liquor cerebrospinalis durch Parasiten. Ausgeprägte parasitäre Invasionen finden im Bereich der Plexi chorioidei statt (POLTERA, 1980). Eine Woche nach einer experimentellen Infektion konnten Trypanosomen im Bindegewebe der Plexi chorioidei nachgewiesen werden (FINK und SCHMIDT, 1979).

PERUZZI (1928) konnte bereits 1928 berichten, daß die Plexi chorioidei als extravasale Trypanosomen Depots mit zahlreichen Teilungsformen dienen. Er nahm an, daß die Trypanosomen von dort aus in großen Mengen in den Liquor vordringen, aber wegen ungünstiger Lebensbedingungen bald zugrunde gehen. Seiner Ansicht nach wehrt der Liquor, solange der Eiweißgehalt nicht erhöht ist die Trypanosomen ab.

Diese frühe hypothetische Aussage von PERUZZI wurde durch jüngste Untersuchungen am ILRAD* erhärtet. Während die Zugabe von Liquor cerebrospinalis von chronisch mit Trypanosomen infizierten Ziegen das in vitro-Wachstum von Trypanosomen unterstützte, war dieser Effekt nicht durch Zugabe von Cerebrospinalflüssigkeit gesunder Tiere zu erzielen (ILRAD, 1985).

Scheinbar als Reaktion auf die Invasion des Liquors mit Trypanosomen kommt es zur chronischen Meningitis (SCHMIDT, 1983).

Im Liquor cerebrospinalis sollen die Parasiten vom Cavum subarachnoidale in die perivaskulären Räume der cerebralen Gefäße (Virchow-Robin-Räume) einwandern. Hitologisch ist diese zweite Phase der cerebralen Trypanosomiasis gekennzeichnet durch eine ausgeprägte Infiltration von Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und Trypanosomen in die perivaskulären Räume (POLTERA, 1983; WHITELAW et al., 1985). Diese perivaskuläre, zelluläre Infiltration wird verstanden als der morphologische Ausdruck der entzündlichen Reaktion auf die Einwanderung der Trypanosomen (SCHMIDT, 1983).

* International Laboratory for Research on Animal Diseases

SCHMIDT (1983) vermutet, daß es in der dritten Phase der chronischen Trypanosomiasis via den perivaskulären Räumen zu einer Besiedlung des Encephalons mit Trypanosomen kommt (SCHMIDT, 1983).

2.2.5 Humorale Immunantwort

Serumproteinuntersuchungen bei Mensch und Tieren infiziert mit Tryopanosomen zeigen eine starke Erhöhung der Gammaglobulinkonzentration.

So berichteten u.a. HOUBA et al. (1969), FREEMAN et al. (1970) und GREENWOOD (1974) von hohen IgM- und IgG-Konzentrationen in infizierten Menschen und Affen. Gleiche Beobachtungen finden sich für infizierte Rinder (KOBAYASHI und TIZARD, 1976; LUCKINS und MEHLITZ, 1976; NIELSEN et al., 1978a,b).

JATKAR et al. (1973) untersuchte Serumproteinveränderungen von Trypanosoma evansi-infizierten Kamelen in Indien.
In akuten T.evansi-Infektionen konnten sie keine Veränderungen im Albumin- und Gesamtglobulingehalt feststellen, wohl aber beobachteten sie eine geringgradige Erhöhung des α- und γ-Globulingehalts und einen geringgradigen Abfall im β-Globulingehalt. In chronisch infizierten Tieren kam es zu einem Abfall der Albuminwerte und einem deutlichen Anstieg in der α-, β- und γ-Globulinkonzentrationen.

BOID et al. (1980) bestimmten erstmals die Immunglobulinspiegel in T.evansi-infizierten und nichtinfizierten Kamelen im Sudan. Infolge der Infektion stiegen die IgM-Spiegel um ca. das fünffache der Ausgangswerte, während IgG keine signifikanten Veränderungen zeigte.

Der Anstieg der Immunglobulinspiegel wird nur zum Teil auf Trypanosomen-spezifische Antikörper (FREEMAN et al., 1970) zu-

rückgeführt. Der größere Teil wird als Ergebnis einer polyklonalen B-Zellstimulation gewertet. Jüngste Untersuchungen in Trypanosoma brucei-infizierten Rindern (MUSOKE et al., 1981) und Trypanosoma congolense-infzierten Rindern (MASAKE et al., 1983) zeigten allerdings, daß nach Verwendung variantenspezifischer Antigene der Anstieg des Serumimmunglobulinspiegels primär Folge einer Produktion Trypanosomen-spezifischer IgM- und IgG-Antikörper ist. Es ergaben sich keine Hinweise für eine Produktion von unspezifischen Immunglobulinen.

Herausragendes Phänomen der afrikanischen Trypanosomiasis ist sicher die Persistenz von Trypanosomen im Blutstrom trotz einer parasiten-spezifischen Immunantwort des Wirtes, bedingt durch die Fähigkeit des Erregers zur Antigenvarianz.

Unter Antigenvarianz wird eine Veränderung des variantenspezifischen Oberflächenantigens (variant-specific surface coat antigen = VSA) der Trypanosomen verstanden.
In einer antigenetisch predominenten Trypanosomenpopulation existieren bereits Erreger in geringer Zahl mit neuen Antigenvarianten. Die Immunantwort ist gegen die predominante Trypanosomenpopulation (VSA-spezifische Immunantwort) gerichtet und führt zu Lysis dieser Population. Trypanosomen mit neuem VSA werden noch nicht vom Immunsystem erkannt und können zur nächsten antigenetisch predominanten Population reproduzieren. Diese Antigenvariation und die VSA-spezifische Immunantwort führt zu Selektion neuer Varianten und damit zu neuen Parasitämien (MANSFIELD, 1981).

Antikörper der VSA-spezifischen Immunantwort sind nur gegen die exponierten, variantenspezifischen Epitope des Oberflächenglykoproteins (variant surface glycoprotein = VSG) der Trypanosomen gerichtet und führen zur Lysis.
Bei der Zerstörung der Trypanosomen oder aber Schädigung des VSGs wird sogenanntes somatisches Antigen frei. Für das interne Antige so wird angenommen - bestehen gemeinsame Genus-,

Subgenus-, Spezies- und Stamm-spezifische Determinanten (MEHLITZ, 1975).

In vivo werden diese Determinanten dem Immunsystem nicht oder nur nach Zerstörung des Erregers präsentiert, sie sind somit ohne Bedeutung für den Aufbau einer protektiven Immunität gegen lebende Trypanosomen (ROELANTS und PINDER, 1984). Antigene mit gemeinsamen Determinanten (z.B. gemeinsame speziesspezifische Determinanten) wären aber von besonderem diagnostischen Wert (VOLLER et al., 1975; LUCKINS, 1977).

Für die Serodiagnose konnten monoklonale Antikörper gegen T.b. brucei entwickelt werden, die mit allen getesteten T.b. brucei-, T.b.rhodesiense- und T.b.gambiense-Isolaten reagierten, nicht aber mit Isolaten von T.congolense, T.vivax und T.evansi. Gleichfalls gelang es monoklonale Antikörper gegen T.vivax zu produzieren, die mit allen getesteten T.vivax-Isolaten reagierten, nicht aber mit Isolaten einer anderen Trypanosomenspezies. Monoklonale Antikörper gegen T.congolense reagierten nur mit T.congolense und T.simiae (ILRAD, 1985).

Auch im Liquor cerebrospinalis kommt es bei Patienten, die an der Schlafkrankheit leiden, nach einer Invasion von Trypanosomen ins Zentrale Nervensystem (ZNS) zu einer Erhöhung des IgM-Spiegels (MATTERN, 1964).

Die IgM-Erhöhung ist nicht auf eine Penetration vom Plasma in die Cerebrospinalflüssigkeit zurückzuführen, sondern auf eine Produktion im Liquor selbst. Als IgM-Produzenten werden Plasmazellen und große vesikelhaltige Morula-Zellen - sogenannte Mott-Zellen (MOTT, 1906) - im Liquor angesehen. Mit Fluoreszein konjugierte anti-IgM-Seren konnten diese Zellen zytoplasmatisch angefärbt werden (GREENWOOD und WHITTLE, 1973).

Strittig bleibt, ob die Mott-Zellen auch zur Exkretion des gebildeten Immunglobulins fähig sind, oder bereits eine Degenerationsform von Plasmazellen darstellen (ZWART, 1986).

FINK et al. (1983) konnten in T.rhodesiense-infizierten Affen bei Besiedlung des ZNS IgM im Liquor cerebrospinalis nachweisen.

MASAKE et al. (1984) berichteten bei Rindern von einer zerebralen Trypanosomiasis infolge einer Mischinfektion mit T.congolense und T.brucei. Sie konnten im Liquor Antikörper der IgG- und IgM-Klasse gegen varianten-spezifisches Oberflächenglykoprotein (VSG) der zur Infektion verwendeten T.congolense- und T.brucei-Klone nachweisen.

Über Immunglobulinuntersuchungen im Liquor cerebropinalis von Kamelen finden sich in der Literatur keine Angaben.

2.3 Bekämpfung

2.3.1 Chemotherapie und -prophylaxe

Die moderne Chemotherapie, auch spezifische Chemotherapie genannt , begann bereits Anfang des 20. Jahrhunderts mit der Entwicklung trypanozider Chemotherapeutika.

Laveran und Mesnil gelang 1902 die erste erfolgreiche Behandlung Trypanosoma brucei-infizierter Ratten und Mäuse mit arseniger Säure ($As[OH]_3$) (MEYER und GOTTLIEB, 1933). Ehrlich und Mitarbeiter untersuchten verschiedene Farbstoffe auf ihre trypanozide Aktivität. Aus ihrer Entwicklung entstand 1916 das Suramin, das 1924 als Germanin^R (Bayer) auf den Markt kam (MULLIGAN, 1970). Die Entdeckung des British-Anti-Lewisite (BAL) durch Peters und ihre Verbindung mit Melarsenoxide durch Friedheim (1949) führte zum Melarsoprol (Arsobal^R, SPECIA) (MULLIGAN, 1970).

Die heute existierenden Trypanozide werden in der Literatur in einer Reihe von Abhandlungen vorgestellt (MULLIGAN, 1970; WILLIAMSON, 1976; MESHNICK, 1981; HOWELLS, 1985).
Im folgenden wird ein kurzer Abriß über die ersten Behandlungsversuche in der Chemotherapie der T.evansi-Infektion von Kamelen gegeben. Im Anschluß erfolgt eine tabellarische Aufstellung der heute relevanten Trypanozide gegen Kameltrypanosomiasis.

Erste Therapieversuche wurden bereits 1909 in Ägypten unternommen (MASON, 1911). Neun an T.evansi-erkrankte Kamele wurden wie folgt behandelt: Am 1. Tag der Behandlung 2 g Atoxyl (= Arsanilsäure) (s.c.), am 3. Tag 4 bis 7 g Orpiment (arsenic trisulphide) (p.o.), am 5. Tag 4 g Natriumarsenat (p.o.) und am 7. Tag wieder 2 g Atoxyl.
Bei 5 Tieren trat nur eine kurzfristige Besserung im Allgemeinbefinden ein, während es im Beobachtungszeitraum von sechs

Monaten bei vier Tieren zu keinen neuen Fieberschüben kam. Auch durch Überimpfen von Jugularvenenblut dieser Tiere auf Ratten konnten keine neuen Parasitämien nachgewiesen werden.

Umfangreiche Therapieversuche wurden 1923 bis 1926 im Sudan durchgeführt. KNOWLES (1927a,b) behandelte natürlich mit Trypanosoma soudanense (= T.evansi)-infizierte Kamele mit Suramin. In einer Dosierung von 10 g pro Tier in 10%iger Aqua dest.-Lösung (i.v.) erwies sich Suramin als äußerst effektiv. Die Dauer der Infektion erschwerte den Therapieerfolg.

BENNETT (1933) untersuchte die prophylaktische Wirkung von Suramin. Zwölf gesunden, nicht infizierten Kamelen wurde Suramin appliziert. Sechs Tiere erhielten je 4 g, die anderen Kamele je 10 g.
Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Suraminapplikation versuchte Bennett, die Kamele experimentell zu infizieren. Jeweils zwei Tiere aus jeder Dosierungsgruppe wurden zwei, fünf und sechs Monate nach der Suraminapplikation infiziert.
Während 10 g Suramin eine experimentelle Infektion noch vier Monate nach der Applikation verhindern konnte, nicht aber mehr nach sechs Monaten, gaben 4 g Suramin bereits zwei Monate nach der Applikation keinen Schutz vor einer Infektion.

In Ägypten wurden 27 natürlich mit T.evansi infizierte Kamele von MAHMOUD und LATIF (1957) mit Suramin in unterschiedlichen Dosierungen behandelt. Der Therapieerfolg wurde in Blutausstrichen und durch Subinokulation von Jugularvenenblut auf Ratten verfolgt.
Der Einsatz von 5 g Suramin führte zur erfolgreichen Therapie aller Tiere. Während mit 4 g der Therapieerfolg noch 83% betrug, konnten mit 3 g nur noch die Hälfte der Kamele erfolgreich behandelt werden. Mit 2 g Suramin wurde nur eine kurzfristige Eliminierung (3 Tage) von Trypanosomen aus der Blutbahn erreicht.

1956 mehrten sich von Kamelherden im östlichen Sudan Berichte über Resistenz gegenüber Suramin (Antrypol^{R}, Imperial Chemical, LTD.). LEACH (1961) unternahm in diesen Herden Therapieversuche mit Antrypol^{R}, Antrycide^{R} (Quinapyramin-Methylsulfat, ICI) und dem damals neuen Trypanozid Berenil^{R} (Diminazenacetu-rat, Hoechst). Trypanosoma evansi erwies sich gegenüber 5 g Suramin als resistent. 2 g Antrycide (s.c.) führten jedoch zur erfolgreichen Therapie. Während sich Berenil in einer Dosierung von 3,5 mg/kg (i.m.) aktive Substanz als ineffektiv erwies, war es in einer Dosierung von 7 mg/kg hoch toxisch für Kamele.
RAISINGHANI und LODHA (1980) infizierten sechs Kamele mit T.evansi (Indien) und behandelten je zwei Tiere in Dosierungen von 1,25 mg/kg, 2,5 mg/kg bzw. 3,75 mg/kg aktive Substanz Berenil^{R}. In allen Dosierungen erwies sich Berenil^{R} als effektiv. Kamele, die mit 3,75 mg/kg behandelt wurden, zeigten bereits 30 Stunden nach Applikation Symptome einer akuten Vergiftung. Die Tiere starben wenige Stunden später. Jüngste Untersuchungen bestätigen die Toxizität von Berenil^{R} für das Camelus dromedarius (FAZIL, 1977; HOMEIDA et al., 1981; SCHILLINGER und RÖTTCHER, 1984).

Der langanhaltende Wirkspiegel von Isometamidiumchlorid (Samorin^{R}, May & Baker; Trypamidium^{R}, SPECIA) beim Rind nach intramuskulärer Applikation und die hohe trypanozide Wirkung gegenüber T.congolense-Infketionen - eine äußerst akut verlaufende Infektion bei Kamelen (HÄRTER et al., 1985) - führte zu Therapieversuchen mit Samorin^{R}.
Während PETROVSKIJ (1974) mit einer intramuskulären Applikation von 1 mg/kg Samorin^{R} gute Erfolge in der Therapie T.evansi-infizierter Kamele erzielte, konnten BALIS und RICHARD (1977) die Parasitämien mit 0,5-1 mg/kg (i.m.) nur für 2-3 Wochen unterdrücken.

Die lokale Toxizität von Isometamidiumchlorid konnte durch intramuskuläre Applikation als Isometamidium-Dextransulfat-

Komplex vermindert werden (JAMES, 1978; SCHILLINGER et al., 1985b).

Zur gänzlichen Vermeidung muskulärer Veränderungen wurde Samorin^{R} auch intravenös appliziert (BALIS, 1977; SCHILLINGER et al., 1985a). SCHILLINGER et al. (1985a) behandelten einen Ausbruch Suramin-resistenter T.evansi-Infektionen von Kamelen im Norden Kenias. 200 Tiere wurden in Dosierungen von 0,25-1,0 mg/kg Samorin^{R} in 0,5-1,0%iger Aqua dest.-Lösung intravenös appliziert. Tierverluste oder Aborte wurden nicht beobachtet.

Um das Spektrum an Trypanoziden zu erweitern und um eine gesicherte Eliminierung von Trypanosomen aus extravaskulären Räumen zu gewährleisten, wurden auch Untersuchungen mit arsenhaltigen Präparaten in T.evansi-Infektionen durchgeführt.

GILL und SEN (1971) behandelten experimentell mit T.evansi-infizierte Ponys mit Mel B (= Melarsoprol, Arsobal^{R}, SPECIA). Melarsoprol wird erfolgreich als Trypanozid im späten Stadium der Schlafkrankheit des Menschen eingesetzt (BUYST, 1975; DUMAS et al., 1983). Während 0,9 mg/kg Mel B die Parasitämie in den Ponys nur kurzfristig unterdrückte, konnten mit 1,8 mg/kg Mel B vier von sieben Ponys erfolgreich therapiert werden. Bei Applikation von 3,6 mg/kg starb eines von drei Ponys.

SCHILLINGER und RÖTTCHER (1984) untersuchten verschiedene in Kenia aus Kamelen isolierte T.evansi-Stämme auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Arsobal^{R} im Mäuse-Sensitivitätstest. Arsobal^{R} erwies sich bereits unterhalb der für die Schlafkrankheit empfohlenen Dosierung als effektiv, so u.a. auch gegen Naganol^{R}- und Antrycide^{R}-resistente Stämme. In einzelnen Therapieversuchen wurden 3,5 mg/kg Arsobal^{R} (i.v.) von Kamelen noch toleriert.

TRYPANOZIDE FÜR DIE CHEMOTHERAPEUTISCHE- UND PROPHYLAKTISCHE ANWENDUNG BEI TRYPANOSOMEN-INFEKTIONEN BEI KAMELEN (CAMELUS DROMEDARIUS)

Chem. Klasse	Generic Name	Handelsname	Dosierung	Wirkung
NAPHTHYLAMINE	SURAMIN	NAGANOL (BAYER) ANTRYPOL (ICI) SURAMIN (S.P.E.C.I.A.)	10-12 mg/kg in einer 10%-igen wässrigen Lösung (i.v.)	K*/P** T.evansi T.brucei
QUINOLINPYRIMIDINE				T.evansi T.brucei T.congolense
	QUINAPYRAMIN-SULPHAT	-SULPHAT	0,3-0,5 ml per 10 kg einer 10%-igen wässrigen Lösung (s.c.)	K.
	QUINAPYRAMIN-CHLORIDSULPHAT	-PROSALT	0,3-0,5 ml per 10 kg einer 10%-igen wässrigen Suspension (s.c.)	K/P
		ANTRYCIDE- (ICI)+ TRYPACIDE- (MAY & BAKER)++ QUINTRYCIDE- (GHARDA CHEM.)++		
PHENANTHRIDINE	ISOMETAMIDIUM-CHLORID	SAMORIN (MAY & BAKER) TRYPAMIDIUM (S.P.E.C.I.A.)		T.congolense
			0,5-1,0 mg/kg (i.m.)	K/P
			0,25-1,0 mg/kg in einer 0,5-1,0%-igen wässrigen Lösung (i.v.)	K
DIAMIDINE	DIMINAZEN-ACETURAT	BERENIL (HOECHST AG)	Toxisch für das Camelus dromedarius in der kurativen Dosierung	
ORG. ARSEN	MELARSOPROL	ARSOBAL (S.P.E.C.I.A.)	(2,0-3,5 mg/kg)1 (i.v.)	T.evansi T.brucei

* Kurativ
** Prophylaktisch
\+ Produktion wurde 1974 eingestellt
++ Produktion wurde 1985 aufgenommen
)1 Ausreichende Toxizitätsuntersuchungen liegen noch nicht vor

2.3.2 Ursachen für den Wirkungsverlust eines Trypanozides

Für den Wirkungsverlust von Trypanoziden wird im allgemeinen Arzneimittelresistenz verantwortlich gemacht.

Seit langem wird darauf hingewiesen, daß die Anwendung von Trypanoziden in zu geringer Dosierung zur Selektion von resistenten Mutanten führt. Es wird jedoch auch zu bedenken gegeben, daß gerade eine häufige und in hoher Dosierung angesetzte Trypanozidbehandlung nur sensitive Trypanosomen in einer Population erfaßt.

Die Wahrscheinlichkeit der Aufnahme und Übertragung resistenter Trypanosomen durch den Vektor wäre somit erhöht.

Wie auch immer bleibt jedoch von besonderer Tragweite die Ausbildung von Mehrfachresistenzen und die Permanenz einer einmal induzierten Trypanozidresistenz (SCHILLINGER, 1985).

SCHILLINGER und RÖTTCHER (1984) untersuchten die Resistenzsituation von T.evansi-Stämmen aus Kamelherden in Kenia. Für zwei Stämme konnte im Mäuse-Sensitivitätstest auch bei Dosierungen, die die therapeutische Dosis um das dreifache überstiegen mit Suramin kein trypanozider Effekt festgestellt werden. Während LEACH (1961) die Suramin-resistenten T.evansi-Stämme noch erfolgreich mit Antrycide^{R} behandeln konnte, waren jedoch die beiden von SCHILLINGER und RÖTTCHER (1984) isolierten Suramin-resistenten Stämme zusätzlich gegenüber Antrycide bei therapeutischer Dosierung (3 mg/kg) völlig unempfindlich. Von den kommerziell verfügbaren Trypanoziden zeigte nur Samorin^{R} eine trypanozide Wirkung.

Neben Trypanozidresistenz oder -toleranz könnte die extravaskuläre Ansiedlung der Trypanosomen, insbesondere ins Zentrale Nervensystem (ZNS), den Wirkungsverlust eines Trypanozids er-

klären (JENNINGS et al., 1979; GRAY et al., 1982; POLTERA, 1983).

JENNINGS et al. (1979) beobachteten in T.brucei-infizierten Mäusen nach einer Behandlung mit Berenil^{R} und einer aparasitämischen Phase von einigen Wochen ein Wiederauftreten von Parasitämien, die nicht durch Resistenz oder Reinfektion erklärt werden konnten. Durch Überimpfen von Gewebematerial in der aparasitämischen Phase auf bestrahlte Mäuse konnten im ZNS Parasiten nachgewiesen werden.

Die Autoren nahmen darum an, daß ein Wiederauftreten der Parasitämien auf eine Rückbesiedlung aus dem ZNS zurückzuführen ist. Ferner wurde angenommen, daß die Blut-Liquorschranke eine ausreichende trypanozide Konzentration von Berenil^{R} im Liquor cerebrospinalis verhinderte.

Die traditionellen Trypanozide in der Bekämpfung der Kameltrypanosomiasis sollen aufgrund ihrer Bindung an Plasmaproteine und ihre Polarität biologische Grenzmembranen nicht passieren.

Arsenpräparate sind die einzigen Trypanozide (mit Ausnahme der sehr toxischen Nitrofurane), die aufgrund geringer Polarität die Blut-Liquorschranke passieren können. Sie werden darum in der Behandlung der Schlafkrankheit eingesetzt, wenn immer Anzeichen für eine Besiedlung des ZNS bestehen (MESHNIK, 1981).

2.4 Diagnose

Erfahrene Kamelhalter können akut an Trypanosomiasis erkankte Kamele in ihrer Herde an den klinischen Symptomen erkennen (HIGGINS, 1983). Die Tiere verringern ihre Futteraufnahme, werden schwerfällig und teilnahmslos und verlieren schnell an Gewicht. An Trypanosomen infizierte Kamele sollen einen süßlichen Geruch ausstrahlen (MAHMOUD und OSMAN, 1984). So wird unter anderem vermutet, daß Pastoralisten erkrankte Kamle am Geruch des Urins erkennen (KNOWLES, 1927a).

2.4.1 Parasitologischer Nachweis

Die direkten Methoden beruhten auf einem mikroskopischen Nachweis des Parasiten im Nativpräparat, Blutausstrich oder durch Überimpfen von Nativblut auf empfängliche Mäuse (MASON, 1911; KNOWLES, 1927a,b; BENNETT, 1933).

Der Aussagewert der mikroskopischen Untersuchung ist sehr stark abhängig vom Stadium der Erkrankung (KNOWLES, 1927a). Bei akut erkrankten Kamelen beträgt der Zeitraum, in dem der Parasit im Nativpräparat nicht nachzuweisen ist, meist nur 3-4 Tage. Eine mikroskopische Untersuchung über mehrere Tage kann somit den Parasiten nachweisen. In der chronischen Phase der Erkrankung dagegen sind die aparasitämischen Zeiträume so groß, daß mit der mikroskopischen Untersuchung keine Aussagen mehr zu treffen sind.

Sehr viel empfindlicher ist der Parasitennachweis mit Hilfe von Anreicherungsmethoden:

a) Subinokulation und Vermehrung auf empfindlichen Nagern,
b) Mikro-Hämatokrit-Zentrifugentechnik (m-HCT),
c) Mini-Anionen-Austausch-Zentrifugentechnik (m-AECT).

a) KNOWLES (1927a,b) verwendete Gerbils oder Wüstenmäuse, seltener Hunde, Kaninchen oder Meerschweinchen. PEGRAM und SCOTT (1976) untersuchten in einer Tsetse-freien Region im südlichen Äthiopien 104 Kamele auf die Prävalenz einer patenten T.evansi-Infektion. Während sie mit der mikroskopischen Untersuchung im Nativpräparat 13,5% und im Blutausstrich 19,5% patente Infektionen nachweisen konnten, ergab die Mäuseinokulation eine Verbreitungsrate von 36,5%. GODFREY und KILLICK-KENDRICK (1962) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie untersuchten 145 Kamele im Norden von Nigeria. In 18 Tieren (12,4%) konnten sie den Parasiten im dicken Tropfen darstellen. Durch Überimpfen von 2-3 ml Jugularvenenblut auf Ratten (i.p.) wurde bei 40 Kamelen (27,6%) eine Trypanosomeninfektion erkannt. Der hohen Empfindlichkeit der Mäuseinokulation stehen als Nachteil die erheblichen Kosten und die teilweise lange Präpatenz von T.evansi-Infektionen in Mäusen gegenüber (BOID et al., 1985).

Die Empfindlichkeit der mikroskopischen Untersuchung und damit der Nachweis niedriger Parasitämien konnte durch eine vorausgehende Konzentrierung der Parasiten in der Mikro-Hämatokrit-Zentrifugentechnik (WOO, 1970) und in der Mini-Anionen-Austausch-Zentrifugentechnik (LANHAM und GODFREY, 1970; LUMSDEN et al., 1979) verbessert werden.

b) In der Mikro-Hämatokrit-zentrifugentechnik (m-HCT) werden mit Nativblut gefüllte, heparinisierte Mikrohämatokritröhrchen (70 µl) ca. 3 Minuten bei ca. 5000 g zentrifugiert. Nach einer Bestimmung des gepackten Zellvolumens (PCV, %) wird im Mikroskop bei 8 x 25facher Vergrößerung die Übergangszone zwischen Plasmasäule und gepackte Zellen auf das Vorhandensein von Trypanosomen untersucht.

c) In der Mini-Anionen-Austausch-Zentrifugentechnik (m-AECT) werden die Trypanosomen von korpuskulären Bestandteilen im Nativblut in einer mit Phosphatpuffer-Glucoselösung-Puffer equilibrierten Diethyl-aminoethyl-Zellulose-Säule (DEAE-52)

getrennt. Die Trypanosomen erscheinen im Eluat, während die korpuskulären Bestandteile in der Säule zurückgehalten werden. Das Eluat wird in einer am distalen Ende verschweißten Pasteur-Pipette aufgefangen, zentrifugiert und mikroskopisch auf Trypanosomen durchmustert.

Beide Techniken fanden Anwendung in Felduntersuchungen, die m-HCT auch in diagnostischen Untersuchungen von Trypanosomen-Infektionen bei Kamelen (LUMSDEN et al., 1981; KELLY und SCHILLINGER, 1983).

KELLY und SCHILLINGER (1983) untersuchten 397 Kamele im Norden Kenias im Nativpräparat durch Mäuseinokulation und mit der m-HCT. Als Zentrifuge verwendeten sie eine batteriegetriebene Minizentrifuge (Compur 1101^{R}, Compur-Electronic).
Die m-HCT erwies sich als empfindlichster Test. Während sie Trypanosomen nur im Nativpräparat von 14 Tieren (3,5%) darstellen konnten, waren mit der Mäuseinokulation 32 (8,1%) und der m-HCT 39 (9,8%) infizierte Kamele zu erkennen.

SACHS (1984) untersuchte die Empfindlichkeit der m-HCT und der m-AECT in vier mit T.b.gambiense-infizierten Antilopen in Liberia. Im Versuchszeitraum wurden die Antilopen täglich mit beiden Techniken simultan auf Trypanosomen untersucht. Dabei erwies sich die m-AECT der m-HCT als überlegen. Während an den 473 Versuchstagen mit der m-HCT nur an 12 Tagen ein Parasitennachweis möglich war, konnten mit der m-AECT an 73 Tagen Trypanosomen nachgewiesen werden.

2.4.2 Serologische Diagnosetechniken

Die ersten indirekten, unspezifischen serologischen Nachweismethoden waren der Formol-Gel-Test (KNOWLES, 1927b), der Quecksilber-Chlorid-Test (BENNETT und KENNY, 1928) und der Thymol-Trübungs-Test (ABDEL-GHAFFAR, 1960). Diese Tests

beruhen auf dem Nachweis einer Veränderung im Serumproteingehalt.
PEGRAM und SCOTT (1976) verwendeten diese Tests in ihren Untersuchungen in Ätiopien. Zwischen den Tests bestand eine schlechte Korrelation und bei einer Reihe patent infizierter Kamele kam es sogar zu falsch negativen oder zweifelhaften Ergebnissen.

Aussagekräftigere Ergebnisse waren erst mit der Entwicklung der neueren spezifischen serologischen Methoden möglich. Sie basieren auf einer quantitativen oder qualitativen Bestimmung von Immunglobulinspiegeln oder auf dem Nachweis von zirkulierenden trypanosomen-spezifischen Antikörpern oder zirkulierendem trypanosomen-spezifischem Antigen.

LUCKINS et al. (1979) und BOID et al. (1980) berichteten erstmals über Veränderungen in den Immunglobulinklassen experimentell und natürlich infizierter Kamele. Mit klassenspezifischen Antiseren bestimmten sie in der einfachen radialen Immundiffusion (MANCINI et al., 1965) die Immunglobulin-M- und Immunglobulin-G-Konzentration. Wie berichtet, stiegen in den experimentell mit T.evansi infizierten Kamelen die IgM-Spiegel zeitweise auf Maximalwerte um ca. das fünfache der Ausgangswerte. IgG zeigte keine signifikanten Veränderungen. Nach der Therapie kehrten die IgM-Spiegel nicht wieder auf die Ausgangswerte zurück. In 30 natürlich infizierten, parasitologisch positiven Kamelen konnte nur in 17 Fällen (56,7%) ein signifikant erhöhter IgM-Spiegel festgestellt werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen führten Untesuchungen in T.brucei-, T.congolense- und T.vivax-infizierten Rindern. Auch hier wurde von hohen IgM-Spiegeln infolge der Infektion berichtet (CLARKSON et al., 1975; LUCKINS und MEHLITZ, 1976).
Die Untesuchungen von LUCKINS und MEHLITZ (1978) zeigten aber auch, daß nicht jede gesicherte patente Infektion mit einer signifikanten Erhöhung im IgM-Spiegel einhergeht. Von 39 mit

T.brucei-, T.vivax- oder T.congolense-infizierten Zebu- oder N'dama-Rindern zeigten nur 21 Tiere (53,9%) einen signifikant erhöhten IgM-Spiegel. Bei der Rindertrypanosomiasis (LUCKINS und MEHLITZ, 1978) und bei der Kameltrypanosomiasis (LUCKINS et al., 1979) gilt der IgM-Spiegel in der Serodiagnose heute als nicht ausreichend empfindlich.

Der Indirekte-Fluoreszens-Antikörper-Test (SADUN et al., 1963) und der Enzyme-linked-Immunosorbent-Assay (VOLLER et al., 1975) ermöglichte einen Nachweis von trypanosomen-spezifischen Antikörpern.

1941 entwickelte Coons eine Methode, die es erlaubt, fluoreszierende Farbstoffe an Antikörpermoleküle zu binden. Dadurch wurde es möglich, Antigen-Antikörper-Komplexe sichtbar zu machen (BENACERAF und UNANUE, 1982).
Beim Indirekten-Fluoreszens-Antikörper-Test (IFAT) werden lebende Trypanosomen auf einen Objektträger fixiert und mit dem Testserum inkubiert. Die trypansomen-spezifischen Antikörper im Testserum binden sich an die freien antigenen Determinanten der Trypanosomen. Nach einer Inkubation wird der Objektträger gewaschen und mit einem fluoreszein-konjugierten tierartspezifischen Immunglobulin-Antiserum überschichtet. Während der zweiten Inkubation binden sich die fluoreszein-markierten Antikörper gegen die tierartspezifischen Antikörper, die sich um die fixierten Trypanosomen gelagert haben. Nach einem zweiten Waschvorgang wird der Objektträger unter dem Fluoreszensmikroskop betrachtet. Fluoreszieren die Trypanosomen, so deutet dies auf das Vorhandensein trypanosomen-spezifischer Antikörper hin. Durch Einsatz von klassenspezifischen fluoreszein-konjugierten Antiseren können Antikörper der verschiedenen Glubolinklassen nachgewiesen werden.

Die immunologischen Grundlagen des Enzyme-linked-Immunosorbent-Assays (ELISA) gleichen denen der Immunofluoreszens, je-

doch wird zur Sichtbarmachung der Antikörper anstatt des Fluoreszein ein Enzym, z.B. die Meerrettichperoxidase (NAKANE und KAWAOI, 1974) verwendet, das durch seine Aktivität einen Indikator farblich verändert. Als Antigen finden in dem ELISA jedoch meist Tryps.-Extraktantigene, sogenannte somatische Antigene, Anwendung. Diese müssen an Polystyrol (Platten, Stäbchen, Kugeln) aufgelagert werden. Nach Serumzugabe binden die antigenen Determinanten trypanosomenspezifische Antikörper zu einem Komplex, an das ein mit Peroxidase konjugiertes tierartspezifisches Antiglobulin angelagert wird. Die Farbintensität der Reaktion eines Enzym-Substrat-Indikatorsystems entspricht der Höhe des Antikörpertiters.

LUCKINS et al. (1979) untersuchten natürlich und experimentell mit T.evansi-infizierte Kamele im IFAT und ELISA.
Für den IFAT verwendeten sie mit Aceton-fixierte Blutausstriche von parasitämischen, mit T.evansi-infizierten Mäusen. Von den experimentell infizierten Kamelen wurden Serumverdünnungen von 1/20 bis 1/5120 angelegt. Die Kamelseren von den Felduntersuchungen wurden 1/20 bis 1/400 verdünnt. Als Konjugat verwendeten sie mit Fluoreszein gekoppeltes Anti-Kamel-IgG. Seren, die in Verdünnungen von 1/40 oder höher noch eine ausreichende Fluoreszens ergaben, wurden als positiv für Trypanosomiasis bewertet.
In dem ELISA beschichteten sie Mikrotiterplatten mit 40 µg/ml Trypanosomenextraktantigen. Als Konjugat verwendeten sie mit Phosphatase konjugiertes Anti-Kamel-IgG. Alle Testseren wurden 1/200 verdünnt. Mikro-ELISA-Werte > 0,1 wurden als positiv gewertet.

Vier weibliche Kamele (A, B, C und D) wurden mit 1×10^4 Trypanosomen infiziert (s.c.). Im IFAT und ELISA konnten 10 bis 15 Tage nach der Infektion erstmals Antikörper der IgG-Klasse nachgewiesen werden. Es kam zu einem graduellen Anstieg und nach 44 Tagen zu einer Plateaubildung. Nach der Therapie mit Suramin wurde kein Abfall im Antikörperspiegel beobachtet.

Bei drei männlichen Kamelen (557, 581 und 587), infiziert mit 1 x 10^6 Trypanosomen (s.c.) konnte ein progressiver IgG-Antikörperanstieg 12 Tage nach der Infektion nachgewiesen werden. Während es nach 86 Tagen zu einem geringgradigen Abfall kam, stieg der IgG-Antikörperspiegel nach der Therapie nochmals kurzfristig an. Es wurde nicht ausgeschlossen, daß es sich um einen Suramin-resistenten T.evansi-Stamm gehandelt hatte.
In der männlichen Kamelgruppe konnten nach der Behandlung noch Trypanosomen nachgewiesen werden. Zu einem signifikanten Abfall der IgG-Antikörpertiter kam es erst nach einer erneuten Behandlung mit Antrycide.

Zwischen den parasitologischen Befunden der natürlich infizierten Kamelen und den Ergebnissen im IFAT und ELISA ergaben sich gute Korrelationen. Von den 30 parasitologisch gesichert positiven Kamelen wurden 29 Tiere (96,7%) im IFAT und 26 Tiere (86,7%) im ELISA als positiv eingestuft. Von den parasitologisch negativen Kamelen hatten im IFAT 73 Tiere (37,3%) und im ELISA 68 Tiere (34,7%) Trypanosomen-spezifische Antikörper.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch BOID et al. (1981) bei T.evansi-infizierten Ziegen, Schafen und Kamelen im Sudan; LUCKINS und MEHLITZ (1978) bei experimentell mit T.brucei-, T.vivax- und T.congolense-infizierten N'dama- und Zebu-Rindern; LUCKINS et al. (1978) bei experimentellen T.evansi-Infektionen bei Kaninchen und RUITENBERG und BUYS (1977) in T.rhodesiense-infizierten Patienten.

Als erschwerend für die Serodiagnose wird im allgemeinen jedoch die lange Persistenz von Antikörpern der IgG-Klasse nach der Therapie gesehen, die keine frühzeitige Unterscheidung zwischen einer patenten und nichtpatenten Infektion erlaubt (ZWART et al., 1973; MEHLITZ, 1975; LUCKINS et al., 1979; BOID et al., 1981).

Eine frühzeitige Aussage über den Therapieerfolg wird von serologischen Methoden erwartet, die auf dem Nachweis von zirkulierendem, trypanosomen-spezifischem Antigen basieren (BIDWELL und VOLLER, 1981; ARAUJO, 1982; RAE und LUCKINS, 1984).

RAE und LUCKINS (1984) konnten in einem modifizierten ELISA (double antibody sandwich assay, BIDWELL und VOLLER, 1981) zirkulierendes trypanosomen-spezifisches Antigen in Seren von experimentell infizierten Kaninchen und Ziegen nachweisen.

Als Antiserum verwendeten sie ein Anti-Trypanosomenextrakt-antigen-Immunserum, konjugiert mit Meerrettichperoxidase. Die Mikrotiterplatten wurden in drei Schritten mit Antiserum, Testseren und abschließend mit Konjugat inkubiert. Nach jeder Inkubation erfolgte ein Waschvorgang. Die Farbintensität der Reaktion eines Enzym-Substrat-Indikatorsystems entspricht der Konzentration an Antigen (Ag-ELISA-Wert).

Mit dem Ag-ELISA konnte bei T.evansi-infizierten Kaninchen zirkulierendes Antigen bereits 4 bis 8 Tage nach der Infektion (i.v.) nachgewiesen werden. Sieben Tage nach der Therapie mit Suramin war kein Antigennachweis mehr möglich.
Mit T.brucei- oder T.vivax-infizierte Ziegen zeigten einen ersten Antigentiter sieben Tage nach der Infektion und ein Titermaximum zwischen dem 10. und 40. Tag p.i. Nach dem 40. Tag kam es jedoch zu einem Titerabfall, der durch Bindung von Antigen in Immunkomplexen erklärt wird.

Am ILRAD wurden T. brucei-spezifische monoklonale Antikörper zum Nachweis von zirkulierendem Antigen im Blut von T. brucei-infizierten Rindern verwendet. Im 'Sandwich'-ELISA konnte zirkulierendes Antigen zwei Wochen nach der Infektion durch infizierte Tsetse-Fliegen und über den gesamten Infektionszeitraum dargestellt werden. T.vivax-spezifische monoklonale Antikörper erfassten zirkulierendes Antigen im Blut von Rindern drei Wochen nach der Infektion durch T.vivax-

infizierte Tsetse-Fliegen. Der Antigennachweis war im gesamten Infektionszeitraum möglich; ebenfalls zu Zeiten, an denen ein parasitologischer Nachweis durch eine mikroskopische Untersuchung nicht möglich war. Nach einer Behandlung mit Berenil^{R} (Diminazenazeturat) betrug die Plasmaclearence für Trypanosomenantigen 1 bis 2 Wochen (ILRAD, 1985).

Von MAGNUS et al. (1978) wurde ein Schnelltest zur Serodiagnose von Trypanosoma gambiense-Infektionen beim Menschen entwickelt, der heute als 'Card Agglutination Test for Trypanosomiasis' (Testryp^{R}, CATT, Smith Kline-RIT, Belgien) angeboten wird.
In diesem Test werden gefriergetrocknete und gefärbte Trypanosomen bestimmter Serodeme von Trypanosoma gambiense verwendet, die nach Resuspension und Vermischen mit den zu untersuchenden Seren infizierter Patienten zu einer makroskopisch sichtbaren Agglutination führen.
ZWEYGARTH et al. (1984) untersuchten Seren experimentell und natürlich mit T.evansi- und T.brucei-infizierter Kamele im CATT als auch in der Komplement-Bindungs-Reaktion (KBR). Zwischen den Ergebnissen beider Tests bestand eine gute Korrelation.

2.5 Kamel (Camelus dromedarius)

2.5.1 Klinische und hämatologische Daten

Unter traditionellen nomadischem Management erreichen Kamele in Kenia die endgültige Körpergröße mit 5-6 Jahren und das Endgewicht 1-3 Jahre später. Rendille-Gabbra-Kamele im Norden und Nordwesten Kenias erreichen eine Schulterhöhe zwischen 1,7 und 1,9 m (SCHWARTZ et al., 1982). Die Körperendgewichte variieren sehr stark und liegen je nach Typ zwischen 300 und 650 kg. Ausgewachsene, männliche Somalikamele können eine Schulterhöhe von 2,2 m und ein Endgewicht von 800 bis 1.000 kg erreichen.

Die tägliche Rektaltemperatur der Kamele kann bei Wasserentzug und hohen Schwankungen in der Umgebungstemperatur um mehr als 6°C variieren. Durch die Erhöhung seiner Köperinnentemperatur kann ein 500 kg schweres Kamel bis zu $1{,}26 \times 10^7$ J Energie speichern. Müßte diese Energie durch Verdunstung abgegeben werden, so wären hierfür 6 Liter Wasser aufzuwenden (SCHMIDT-NIELSEN et al., 1957).

Bei genügendem Wasserangebot liegt die frühmorgendliche Rektaltemperatur der Kamele im allgemeinen zwischen 36°C und 36,5°C und steigt im Laufe des Tages kontinuierlich auf Werte zwischen 38°C und 39°C an. Ein Kamel mit einer morgendlichen Körperinnentemperatur um 37,5°C und 38°C würde als 'fibril' zu bezeichnen sein (LEESE, 1927; HIGGINS und KOCK, 1984).

Nach einer ausgeprägten Dehydration können Kamele bei genügendem Wasserangebot in kurzer Zeit ihren gesamten Bedarf decken (SCHMIDT-NIELSEN et al., 1957).

Trotz der starken Wasserzufuhr in die Blutbahn kommt es jedoch zu keiner Hämolyse der Erythrozyten, da sich diese durch eine

bemerkenswerte Widerstandsfähigkeit gegenüber hypotonischen Lösungen auszeichen.

Über die Höhe des gepackten Zellvolumens (PCV, %), die Anzahl der Erythrozyten (RBC) und des Hämoglobingehaltes (Hb) des Blutes finden sich in der Literatur annähernd übereinstimmende Angaben. Die Gesamtzahl der Leukozyten für das Camelus dromedarius wird allerdings von der Zoologischen Gesellschaft London (in: HIGGINS und KOCK, 1984) wesentlich niedriger angegeben, als von anderen Autoren. HAWKEY (1975) unterstreicht allerdings, zumindest für das Camelus bactrianus, im Vergleich zu anderen Wiederkäuern höhere Leukozytenwerte als üblichen Befund.

In der folgenden Übersicht wurden die Blutparameter für das Kamel (Camelus dromedarius) aus der Literatur zusammengetragen.

BLUTPARAMETER DES CAMELUS DROMEDARIUS:

PVC (%)	RBC (x 10^{12}/l)	Hb (g/dl)	WBC (x 10^{9}/l)	
	3,8-12,6 (8,2)	10,6-20,3 (15,5)	12,9-27,2 (20,1)	1)
20-30 (27)	6-9 (7,24)			2)
	7,5-10,0 (8,0) 7,5-10,5 (8,5)	10,1-15 (12,1) 12,5-16,0 (13,7)	13-20* (16,5) 13-20** (16,5)	3)
(28,94)	(9,83)	(12,5)	(17,18)	4)
18-35 (28,0)	4,2-9,4 (7,0)	7-15 (11,5)	6,2-23,6 (15,5)	5)
25-34 (30±2,64)	7,22-11,76 (7,83± 1,31)	7,8-15,9 (11,1± 1,78)	11,15-16,5 (13,23± 2,01)	6)
23-32 (27,4)	4,2-10,9 (8,26)	9,0-14,5 (11,4)	8,2-16,0 (12,4)	7)
24-42	7,6-11,0	11,4-14,2	2,9-9,7	8)

Quellenangaben:
1) SONI und AGARWALA (1958)
2) BANERJEE et al. (1962)
3) HÖLLER und HASSAN (1966)
   * Werte von 24 erwachsenen weiblichen Kamelen
   ** Werte von 13 erwachsenen männlichen Kamelen
4) JATKAR und PUROHIT (1971)
5) GHODSIAN et al. (1978)
6) ABDELGADIR et al. (1984)
7) ARZOUN (1981)
8) ZOOLOGICAL SOC. LOND. (IN: HIGGINS und KOCK, 1984)

2.5.2 Liquorparameter

SOLIMAN et al. (1966) untersuchten in Ägypten die Cerebrospinalflüssigkeit von 200 Kamelen. In tabellarischer Form werden die Ergebnisse der physikalischen, zytologischen und biochemischen Untersuchung des Liquors wiedergegeben.

LIQUORPARAMETER DES CAMELUS DROMEDARIUS

	männlich	weiblich
Farbe	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine
pH-Wert	7,31±0,01 (7,10-7,60)	7,22±0,02 (7,00-7,40)
spez. Gewicht (mg/ml)	1009±0,08 (1007-1010)	1009±0,10 (1007-1010)
Zellgehalt/µl	17,25±0,84 (0,00-30,0)	15,50±0,57 (5,0-30,0)
Zelldiff.:		
Lymphozyten %	94,27±0,44 (90-100)	94,75±0,46 (90-100)
Endothelzellen %	5,73±0,44 (0-10)	5,25±0,46 (0-10)
Eiweiß (mg/dl)	30,95±0,65 (20,0-42,0)	30,05±0,48 (22,0-42,0)
Harnstoff (mg/dl)	4,73±0,22 (2,5-8,5)	4,11±0,20 (2,5-8,3)
Glucose (mg/dl)	63,0±0,01 (40,0-80,0)	68,55±1,37 (38,0-84,0)

Über die Entnahmetechnik bei Kamelen findet sich in der Literatur nur eine, leider sehr wenig detaillierte Beschreibung von BHATIA et al. (1971). SOLIMAN et al. (1966) verweisen für die Liquorentnahme bei Kamelen auf die für Rinder beschriebene Punktionstechnik.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methode

3.1.1 Versuchstiere

Die Versuchstiergruppe bestand aus 15 männlichen Kamelen (Camelus dromedarius) des Typs Rendille/Gabbra aus dem Norden Kenias.

Die folgende Übersicht gibt Aufschluß über ihre Kennzeichnung, Geburtsmonat und -jahr, Einstellungsdatum, Abmessungen und dem aus den Abmessungen bestimmten Körpergewicht vor Versuchsbeginn.

VERSUCHSTIERE:

KENNZEICHNUNG	GEBOREN AM	EINGESTELLT AM	KÖRPERABMESSUNGEN (m)* SH	SC	HC	KÖRPERGEWICHT* (kg)
38	8.79	2.8.84	1,80	1,81	2,26	368,2
43	4.80	83	1,80	1,92	2,40	414,7
51	6.80	83	1,80	1,8	2,30	372,6
54	1.80	2.8.84	1,80	1,86	2,36	395,1
55	6.80	83	1,63	1,70	2,28	315,9
65	80	83	1,70	1,86	2,34	370
67	1.80	2.8.84	1,85	1,78	2,19	360,6
68	1.80	83	1,80	1,95	2,37	416
70	80	83	1,80	1,92	2,39	413
93	11.81	2.8.84	1,76	1,76	2,12	328,4
96	6.82	2.8.84	1,65	1,67	1,96	270
97	81	2.8.84	1,72	1,82	2,10	328,7
100	6.82	2.8.84	1,65	1,65	2,02	275
105	4.82	2.8.84	1,65	1,72	1,77	251,2
108	5.82	2.8.84	1,60	1,55	1,82	225,7

* BOUE (1949); SCHWARTZ et al. (1982); siehe 'Klinische Untersuchung'

Neun Kamele stammten aus einer Herde in Rumuruti; sechs weitere Tiere standen bereits in den Veterinärmedizinischen Labors Kabete dem Versuch zur Verfügung.

Die Tiere wurden nach ausführlichen parasitologischen und serologischen Untersuchungen ausgewählt. Nur klinisch gesunde Kamele, frei von einer Trypanosomeninfektion und frei von trypanosomen-spezifischen Antikörpern oder aber nur mit einem geringen Antikörpertiter (< 1:100) aus einer postpatenten Infektionsphase wurden eingestellt.

Die Kamele wurden in fliegensicheren Stallungen untergebracht. Die Stalltemperatur unterlag aufgrund des vorherrschenden milden Höhenklimas (1800 m) in Kabete nur geringen Schwankungen. Temperaturen von 15-25°C wurden selten über- oder unterschritten. Gefüttert wurde mit Pferdepellets. Heu und Stroh sowie Salzlecksteine und Wasser erhielten die Tiere ad libitum.

Während der einmonatigen Adaptationsphase wurden alle Kamele zweimal in dreiwöchigem Abstand mit Thiabendazol (60 mg/kg KGW) entwurmt.

Die Anzüchtung von T.evansi erfolgte in erwachsenen BALB/C-Mäusen beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von ca. 25 g. Zehn Kahninchen aus bekannter Zucht im Alter von einem Jahr und einem Körpergewicht von ca. 3 kg wurden als Antikörperbildner verwendet.

3.1.2 Der Erreger

Das Ausgangsisolat wurde am 02. Oktober 1979 von A.J. Wilson in einem tsetsefreien Gebiet im Norden Kenias, Marsabit-Kulal, aus einem natürlich-infizierten Kamel gewonnen, in Mäuse passagiert und in Flüssigstickstoff gelagert. Der Stock erhielt

die Bezeichnung Trypanosoma evansi, ex-Marsabit-Kulal/79 und die KETRI-Nummer 2443.

Eine von W. GIBSON 1980 durchgeführte Isoenzyme-Analyse ergab für Stock KETRI 2443 ein für Trypanosoma evansi klassisches Isoenzym-Muster (ASAT I, PGM II, ME II, PEP_1 II und PEP_2 IV; GIBSON, pers. Mitteilung).

Ein Stabilat von KETRI 2443 wurde auf drei mit 800 Rad letal bestrahlte BALB/C-Mäuse überimpft. Aus der ersten Trypanosomenpopulation dieser Mäuse wurden 25 Klone (Klon 1 bis 25) nach der von BARRY et al. (1984) beschriebenen Methode erfolgreich abgeleitet.

Alle 25 Klone wurden in der Immunfluoreszens (NANTULYA et al., 1977) und im Lysistest (VAN MEIRVENNE et al., 1975) getestet und waren nach diesem Kriterium antigenetisch identisch.

Drei Klone (Klon 1, 7 und 16) wurden rein zufällig ausgewählt und auf ihr Resistenzverhalten gegenüber Naganol und Arsobal im Mäuse-Sensitivitätstest geprüft.

3.1.3 Versuchsanordnung

Die 15 Versuchskamele wurden in vier Gruppen unterteilt:

Gruppe A: 2 Kamele als negative Kontrolltiere
(38,93)
Gruppe B: 3 Kamele als positive Kontrolltiere
(55, 105, 108)
Gruppe C: 5 Kamele behandelt mit Naganol^R (12 mg/kg KGW i.v.)
(51, 67, 70, 96, 97)
Gruppe D: 5 Kamele behandelt mit Arsobal^R (3,5 mg/kg KGW i.v.)
(43, 54, 65, 68, 100)

Zwei Kamele dienten als negative Kontrolltiere. Die drei Tiere der positiven Kontrollgruppe wurden erst gegen Ende des Experiments, d.h. sechs Monate nach der Infektion behandelt.
Die verbleibenden zehn Kamele wurden zwei Monate nach der Infektion zur Hälfte mit Naganol und zur anderen Hälfte mit Arsobal behandelt.

Für die Infektion wurde ein Stabilat von Klon 1 bis zur ersten Parasitämie in zehn bestrahlte BALB/C-Mäuse vermehrt. Die Mäuse wurden unter Äther-Narkose mittels Herzpunktion entblutet. Das stark parasitenhaltige Blut wurde zusammengeführt und mit PSG-Puffer auf eine Konzentration von 1 x 10^5 Trypanosomen pro ml eingestellt. Die zu infizierenden Kamele wurden mit jeweils 1000 Trypanosomen pro kg Körpergewicht intravenös (i.v.) infiziert.

Die intravenöse Applikation von Naganol wurde in der Dosierung von 12 mg/kg KGW in 10%iger Lösung vorgenommen (MAHMOUD und LATIF, 1957). Arsobal wurde in einer Dosierung von 3,5 mg/kg KGW langsam intravenös injiziert (SCHILLINGER et al., 1984).

Liquorproben wurden vor der Infektion, vier bis sechs Wochen nach der Infektion und darauffolgend in ca. zweimonatigen Abständen entnommen.
Die Punktionstechnik wird gesondert beschrieben.

3.1.4 Mäuse-Sensitivitätstest

Die drei Ausgangsklone (Klon 1, Klon 7, Klon 16) und die Trypanosomenpopulationen zum Zeitpunkt der Therapie der positiven Kontrolltiere (6 Monate p.i.) wurden auf ihr Resistenzverhalten gegenüber den eingesetzten Chemotherapeutika Naganol^R (Suramin) und Arsobal^R (Melarsoprol) im Mäuse-Sensitivitätstest überprüft.

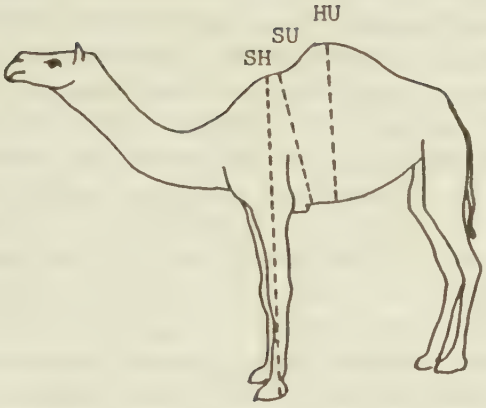
BALB/C-Mäuse wurden mit 1 x 10^5 Trypanosomen intraperitoneal (i.p.) infiziert und in Einheiten zu je fünf Tieren in Käfigen gehalten. Eine Hälfte der Versuchsgruppe wurde sechs Stunden nach der Infektion, die andere Hälfte drei Tage nach der Infektion behandelt. Die Behandlung mit Naganol erfolgte in Dosierungen von 3, 10 und 30 mg/kg KGW i.p.; die mit Arsobal in Dosierungen von 0,3, 1,0 und 3,0 mg/kg KGW. Über einen Beobachtungszeitraum von 48 (33, 26, 23) Tagen wurden die Mäuse durch Untersuchung von Schwanzblut im Nativpräparat zweimal wöchentlich auf Trypanosomen untersucht. Die Ergebnisse der Sensitivitätstests sind in tabellarischer Form im Anhang aufgeführt (Seite 154). Wie aus den Tabellen im Anhang ersichtlich, sind Naganol und Arsobal bei der therapeutisch eingesetzten Dosierung von 12 mg/kg KGW bzw. 3,5 mg/kg KGW gegenüber den Ausgangsklonen sowie den Trypanosomenpopulationen aus der positiven Kontrollgruppe im Mäuse-Sensitivitätstest voll wirksam.

Eine Dosis-/Wirkungsabhängigkeit deutet sich an.

3.1.5 Klinische Untersuchung

Die tägliche klinische Untersuchung umfaßte die Beurteilung des Allgemeinbefindens und das Messen der Körpertemperatur. Hierbei wurde besonders auf eine Veränderung in der Kondition und der Freßlust der Tiere und auf das Auftreten von subkutanen Oedemen geachtet. Die Untersuchung auf Augenveränderungen erfolgte mit dem Augenspiegel nach Heine.

Das Körpergewicht der Kamele wurde nach der von BOUÉ (1949) beschriebenen und von SCHWARTZ et al. (1982) modifizierten Methode bestimmt.



KGW(kg) = SH(m) X SU(m) X HU(m) X 50

KGW : Körpergewicht
SH : Schulterhöhe
SU : Schulterumfang
HU : Höckerbauchumfang

Das Körpergewicht in kg ergibt sich aus dem Produkt Schulterhöhe, Schulterumfang und Abdominalumfang über dem Höcker multipliziert mit der Zahl 50. Die Korrelation zwischen errechnetem und tatsächlichem Gewicht ist mit r = 0,98 angegeben.

3.1.6 Parasitennachweis und Hämatologie

Zur Überprüfung verschiedener Blutparameter und zum Erregernachweis wurde täglich, drei Monate nach der Infektion dann dreimal wöchentlich, in der Zeit von 8 bis 10 Uhr morgens Blut aus der Vena jugularis entnommen.
Nach kurzer Gewöhnungszeit konnte die Blutentnahme bei Fixierung des Kamelkopfes mit dem Ober- und Unterlippengriff am stehenden Tier durchgeführt werden.

Die Entnahme erfolgte im kranialen Drittel der Vena jugularis mit einer 0,8 mm-Kanüle und 20 ml-Spritze. Bei jeder Entnahme wurde ein mit Heparin beschichtetes 5 ml-Röhrchen für hämatologische und parasitologische Untersuchungen gefüllt. Für die Serologie wurde Frischblut mit einem unbeschichteten 10 ml-Glasröhrchen aufgefangen. Die Aufbewahrung der Proben während der Entnahme und der Untersuchung erfolgte in einer Kühlbox.

Unmittelbar nach der Blutentnahme wurde ein semiquantitativer Trypanosomennachweis mit der Hämatokrit-Zentrifugen-Technik (HCT) nach WOO (1970) vorgenommen.
Mit ca. 70 µl Blut gefüllte, heparinisierte Hämatokritröhrchen wurden drei Minuten bei ca. 5000 g zentrifugiert. Nach der Bestimmung des gepackten Zellvolumens (PCV, %) wurde in einem Mikroskop bei einer 8 x 25fachen Vergrößerung die Übergangszone zwischen Plasmasäule und gepackten Zellen auf das Vorhandensein von Trypanosomen untersucht.
Bei Nachweis von Trypanosomen erfolgte eine Auszählung in der Neubauer-Zählkammer analog einer Leukozytenzählung nach adäquater Blutverdünnung (1:2 bis 1: 200) mit Phosphatpuffer-Glucoselösung (PSG). Bei niedrigen Parasitämien wurde das Blut mit einer 0,83%igen Ammoniumchloridlösung hämolysiert. Die Nachweisgrenze lag bei 5 x 10^3 Trypanosomen pro ml Blut.

Nach der Chemotherapie wurde der Parasitennachweis zusätzlich wöchentlich durch Überimpfen von heparinisiertem Jugularvenenblut eines Tieres in Portionen von 0,5 ml auf je zwei bestrahlte Mäuse geführt. Die Mäuse wurden über einen Zeitraum von 30 Tagen zweimal wöchentlich im Nativpräparat auf Trypanosomen untersucht.

Zur Isolierung von Parasitenpopulationen unterschiedlicher Antigenität wurde mit Erreichen eines neuen Parasitämiepeaks Blut entommen und die Erreger als Stabilate in Flüssigstickstoff gelagert.

Zum Nachweis von Parasiten in extravaskulären Räumen wurde bei einem Teil der Tiere nach der Chemotherapie Synovialflüssigkeit aus dem Kniegelenk und Kammerwasser aus der vorderen Augenkammer entnommen und auf bestrahlte Mäuse i.p. überimpft. Die Punktion erfolgte unter Sedierung mit Xylazin (Rompun^{R} [2%], 4 ml/100 kg KGW, i.v.), die Entnahmetechnik in Anlehnung an die bei anderen Tierarten beschriebene Methode. Die Entnahme und Untersuchung des Liquor cerebrospinalis wird gesondert beschrieben.

Für die hämatologischen Untersuchungen wurde anfangs täglich, drei Monate nach der Infektion dreimal wöchentlich, zusammen mit dem Parasitennachweis in der HCT das gepackte Zellvolumen (PCV, %) ermittelt.
Die Zahl der Erythrozyten (RBC) in x 10^{12}/l Blut und die Zahl der Leukozyten (WBC) in x 10^{9}/l wurde mit einem Coulter Counter (Coulter Elextronics LTD, Herts, ENGL.) bestimmt.
Der Hämoglobingehalt (Hb) in g/dl Blut wurde photometrisch im Hämoglobinmeter (Coulter Electronics LTD) gemessen.
Zusätzlich wurden mit Methanol fixierte Blutausstriche zur Erstellung eines Differentialblutbildes angefertigt.

3.1.7 Liquor cerebrospinalis-Entnahme und -Untersuchung

Die Postokzipitalpunktion wurde in Anlehnung an die für andere Tierarten beschriebene Methode (COLES, 1980) durchgeführt.

Rompun sedierte Tiere wurden 2-3 Minuten post injectionem in Brustlage niedergeschnürt.
Die Vorder- und Hintergliedmaßen wurden ausgebunden und der Hals in Längsrichtung des Tieres ausgerichtet. Der Kopf wurde nach ventral abgewinkelt, so daß die Stirnlinie eine Senkrechte mit der Horizontalen bildete. Kopf und Hals ruhten während der Punktion auf einem Strohkissen.

Das sich kaudal der Crista nuchae anschließende Operationsfeld wurde handflächengroß rasiert und desinfiziert. Als Instrumentarium wurde ein 120 mm lange und 1,8 mm starke Kanüle mit eingeschliffenem Mandrin verwendet. Die Punktionskanüle wurde autoklaviert und der Eingriff unter sterilen Kautelen vorgenommen.

Der Einstich erfolgte in der Intersektion einer gedachten Verbindungslinie zwischen den kranialen Polen der Atlasflügel mit den medianen, genau senkrecht und somit parallel zur Stirnlinie.

Beim Durchstechen der Membrana atlantooccipitalis war ein deutlicher Widerstand zu spüren.
Nach Entfernen des Mandrins tropfte meist spontan Liquor ab. Nach Abtropfen von ca. 1 ml wurden 5 ml Liquor mit einer Einmalspritze für die Liquoruntersuchung gewonnen. Weitere 3 ml wurden in Portionen zu je 1 ml i.p. auf drei bestrahlte Mäuse für einen Parasitennachweis überimpft.

Wurde beim ersten Versuch kein Punktat gewonnen, so wurde meist auf einen zweiten Versuch verzichtet. Der Mandrin wurde wieder eingesetzt, die Hohlnadel vorsichtig entfernt und die Einstichstelle antibiotisch versorgt.

Nach dem Eingriff wurde das Kamel von seinen Fesseln befreit und für weitere 2-3 Stunden unter Beobachtung gestellt.

Bei der grobsinnlichen physikalischen Beurteilung wurde auf Farbe, Transparenz und Ausfällungen des Liquor cerebrospinalis geachtet. Der pH-Wert wurde mit einem pH-Meter bei Raumtemperatur bestimmt, das spezifische Gewicht mit einem Refraktometer (Uricon^{R}, Japan) ermittelt.

Die zytologische Auszählung erfolgte mit nativem Liquor in der Neubauer-Zählkammer, eine Zelldifferenzierung nach Liquorzell-

anreicherung mit der Zytozentrifuge (Cytospin^{R}, Shandon Southern Instrumente, Surrey, England) für 10 Minuten bei 1000 Umdrehungen pro Minute und nach Gram-Färbung.

Für den Parasitennachweis wurde neben der intraperitonealen Überimpfung von Nativliquor auf Mäuse eine doppelte Liquorzentrifugation in Anlehnung an die HCT durchgeführt.

Zur Entfernung aller partikulären und zellulären Bestandteile wurde der native Liquor vor der biochemischen und serologischen Untersuchung für 10 Minuten bei 2000 g zentrifugiert.

Eine qualitative Gesamteiweißbestimmung erfolgte mit der Pandy Reaktion, die quantitative Bestimmung nach Lowry.
Die Glucose wurde mit dem Reflotest-Hypoglycemie^{R} (Boehringer-Mannheim GmbH), der Harnstoffgehalt mit Reflotest-Urea^{R} (Boehringer-Mannheim GmbH) relfexionsphotometrisch (Reflomat^{R}, Boehringer-Mannheim GmbH) bestimmt.

Die Untersuchung auf Immunglobulin-G und -M im Liquor cerebrospinalis wurde mit der einfachen radialen Immundiffusion (MANCINI et al., 1965) durchgeführt.
Die hergestellten Antiseren, Anti-Kamel-IgG und Anti-Kamel-IgM wurden bei 60°C in Agar-Noble [3%] (Difco) in einem Antiserum/Agar-Verhältnis von 1:10 gelöst. Nach Gießen und Verfestigung des Gels wurden die Probenaufgabenlöcher (2.0 mm) ausgestanzt und mit 5 µl Liquor gefüllt.

Parallel zu jedem Test wurde eine Standardreihe, IgG- und IgM-Lösungen bekannter Konzentrationen angelegt.
Nach einer Diffusionszeit von 72 Stunden in einer feuchten Kammer wurden die Präzipitationsringe der Proben mit dem Antiserum vermessen.

Der Nachweis trypanosomaler Antikörper im Liquor cerebrospinalis erfolgte in der Mikro-ELISA-Technik in Anlehnung an die

von ENGVALL und PERLMANN (1972) beschriebene und nach VOLLER et al. (1975) modifizierten Methode.

Die Mikrotiterplatten (M 29 A, Flachboden, Dynatech Lab.) wurden mit dem auf für den Antikörpernachweis im Serum verwendeten Extraktantigen in einer Konzentration von 20 µg/ml beschichtet. Die Liquorverdünnung in Stufen von 1:2 bis 1:128 wurde vertikal, d.h. von H nach A angelegt. Für das Anti-IgG-Konjugat wurde eine Verdünnung von 1:50 ermittelt. Mit dem Anti-IgM-Konjugat wurde in einer Verdünnung von 1:20 gearbeitet. In jedem Test lief als Kontrolle in Reihe 2 bzw. Reihe 3 eine positive bzw. negative Liquorsammelprobe mit. Als Substrat diente 2,2-Acino-di(3-Aethyl-Benzo-thiazolin-6-Sulfonsäure) (ABTS).
Als positiver Endtiter war diejenige Verdünnungsstufe des Liquors anzusehen, die im Titertek (405 nm) gerade noch einen stärkeren Absorptionswert anzeigte, als die unverdünnte, gepoolte, negative Liquorkontrolle.

3.1.8 Fraktionierung von Kamel-Immunglobulinen

Zur Gewinnung klassenspezifischer Antiseren mußte Kamel-Immunoglobulin aufgetrennt werden.

Durch eine dreimalige Ausfällung mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung wurde die Gammaglobulinfraktion von den übrigen Serumbestandteilen isoliert.

Für eine weitere Fraktionierung von Immunglobulin-G wurde die Gammaglobulinfraktion für 24 Stunden gegen 1 mM Natrium-Phosphatpuffer (pH 8,0) dialysiert und an Diethylaminoethyl (DEAE)-52 Zellulose (Whatmann, GB) chromatographiert. Nach Auffangen des ersten Eluats und der im ersten Eluat enthaltenen Globulinfraktion erfolgte eine diskontinuierliche Elution mit einem Natrium-Phosphatpuffer (pH 8,0) steigender Molarität

(5 mM, 10 mM, 20 mM, 50 mM, 100 mM) (PETERSON und SOBER, 1956; PHARMACIA FINE CHEMICALS, 1983).

Eine Charakterisierung der eluierten Fraktionen erfolgte über eine Bestimmung des Molekulargewichtes in der im Anschluß beschriebenen Natrium-Dodecyl-Sulfat (SDS)-Polacrylamidgelelektrophorese (PAGE) und über eine immunelektrophoretische Analyse in der Immunelektrophorese (IEP) nach Graber (SCHEIDEGGER, 1955). Als Antiserum wurde ein Anti-Gesamt-Kamel (ILRAD) verwendet.

Die Präparation von Immunglobulin-M wurde in zwei Arbeitsgängen durchgeführt.

Im ersten Arbeitsgang erfolgte eine Gelfiltration mit Sepharose^{R} 6B (Pharmacia Fine Chamical AB).
Der Fraktionsbereich für Sepharose 6B wird mit 10^4 - 1 x 10^6 (Molekulargewicht) angegeben.
Gammaglobulin wurde für 24 Stunden gegen 0,1 M Tris-HCl, 1 M NaCl-Puffer (pH 8,6) dialysiert und über Sepharose 6B in einer Säule (Ø 29 mm x 1000 mm) mit einer Flußrate von ca. 0,5 ml pro Minute sterisch aufgetrennt.

Im zweiten Arbeitsgang erfolgte eine elektrophoretische Auftrennung des zweiten Peaks der Gelfiltration in einer präparativen Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE) in Gegenwart von Natrium-Dodecyl-Sulfat (SDS).
Diese Technik wurde erstmalig beschrieben von DAVIS (1964). SMITH (1976) gibt eine detaillierte Arbeitsanleitung.

Das besonders für die Auftrennung von Makroglobulinen geeignete Gel mit einem Gesamt-Acrylamid/Bisacrylamid-Gehalt von 5% wurde wie folgt hergestellt:

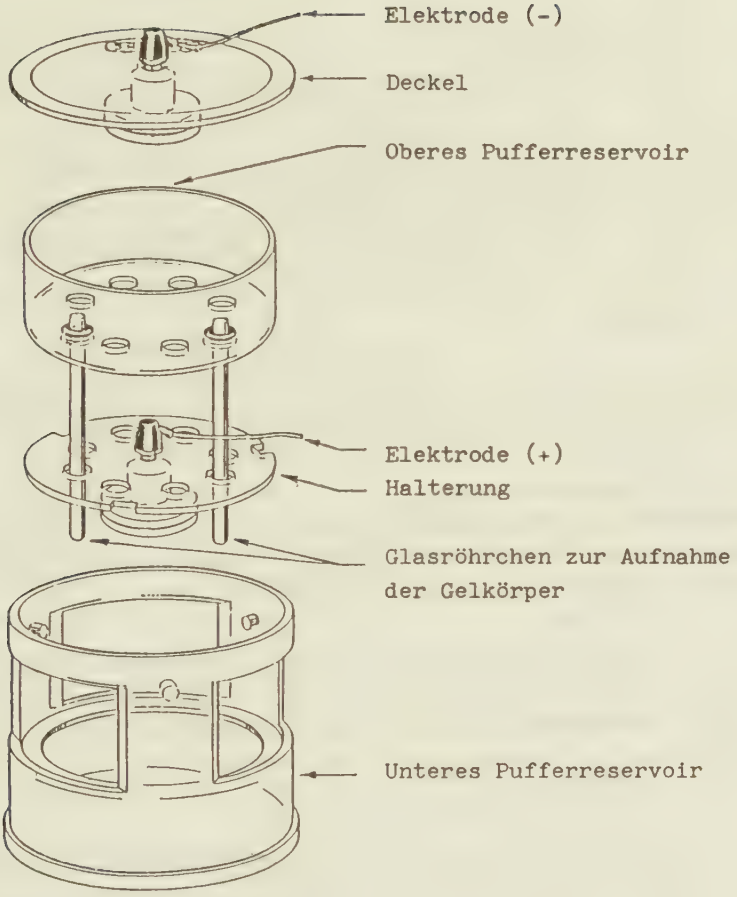
15 ml 0,2 M Natrium-Phosphat-Puffer, pH 7,0, mit einem Gehalt von 0,2% an SDS (= Gel-Puffer)

13,5 ml Acrylamid-Stock (5%)
1,5 ml Ammoniumpersulfat-Lösung

Nach einer 5-minütigen Entgasung wurden 20 µl Tetramethyl - ethylenediamine (TEMED) zugegeben. Anschließend wurde die Gellösung umgehend in vertikal ausgerichtete, am Boden mit Parafilm geschlossene, Glasröhrchen (Ø 5 mm x 70 mm) pipettiert. Diese wurden bis 10 mm unterhalb der Oberkante unter Vermeidung von Blasenbildung mit der Gellösung gefüllt.
Zur Bildung einer scharfen, horizontalen Polymerisationsgrenze wurde die Gellösung vorsichtig mit 20-30 µl Aqua dest. überschichtet. Nach 20-30 Minuten war die Polymerisation abgeschlossen.
Der dem Gel überlagerte Aqua dest.-Tropfen wurde verworfen, die Bodenabdichtung aus Parafilm entfernt und die Glasröhrchen vertikal in die Laufkammer eingespannt.

Die folgende Abbildung zeigt den Aufbau der Laufkammer. Angaben zur Zusammensetzung der verwendeten Lösungen befinden sich im Anhang (Seite 154).

Der Gel-Puffer wurde mit Aqua dest. 1:2 verdünnt (= Arbeits-Puffer) und in das untere und obere Pufferreservoir verteilt. Die Vorrichtung wurde zusammengesteckt und die Elektroden mit einer konstanten Stromquelle verbunden. In einem 30-minütigen Vorlauf wurde die Vorrichtung mit einer Stromstärke von 5 mA pro Glasröhrchen versorgt.



Aufbau der PAGE- Vorrichtung

Während des Vorlaufs konnte der Proben-Puffer vorbereitet werden:

480 µl	70% Glycerol
240 µl	10% SDS
600 µl	50 mM Natrium-Phosphat-Puffer, pH 8,0
120 µl	0,05% Bromphenolblau
60 µl	44 mM Phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF)
1200 µl	Probe (200 µg/ml Protein)

2700 µl : 12 Gelkörper* = 225 µl pro Gelkörper

* Für die präparative Auftrennung wurden 12 Gelkörper eingesetzt.

Nach Beendigung des Vorlaufs und nach Abnahme der Stromquelle wurde der Puffer aus dem oberen Reservoir entnommen. Der einzelne Gelkörper wurde mit 225 µl Probenpuffer überschichtet. Dieser Probenpuffer enthielt 100 µl der aufzutrennenden Probe mit einer Proteinkonzentration von 200 µg pro ml. Damit wurde jeder Gelkörper mit 20 µg Eiweiß beladen. Das optimale Ladungsvermögen pro Gelkörper beträgt 10-50 µg.

Je zwei Gelkörper wurden mit einem Proteinstandard mit bekanntem Molekulargewicht im makro- und mikromolekularen Bereich beladen (Pharmacia Electrophoresis Calibration Kits). Vor Aufgabe wurden die Standardproben mit Mercaptoethanol für 5 Minuten bei 100°C behandelt.

Nach Behandlung der Gelkörper wurde das obere Reservoir wieder mit dem zuvor entfernten Arbeitspuffer gefüllt. Die Spannungsquelle wurde angelegt.

In den ersten 15 Minuten wurde mit 5 mA gearbeitet, im weiteren Verlauf mit 8 mA Stromstärke pro Gelkörper.
Nach ca. 3 Stunden Laufzeit befand sich die Bromphenolbande ca. 10 mm oberhalb der Unterkante des Gelkörpers. Der Lauf wurde beendet.

Die Gelkörper wurden nach Einspritzen von Aqua dest. in den Zwischenspalt zwischen Gelkörper und Glasröhrchenwandung aus den Glasröhrchen gelöst und entfernt und für ca. 1 Stunde in Coomasie Brillant Blau gefärbt. Zur Entfärbung wurde eine 7%ige Eisessig, 20%ige Methanol-Lösung verwendet.

Eine Charakterisierung der isolierten Immunglobuline erfolgte wieder über eine Bestimmung des Molekulargewichtes in der SDS-PAGE und über eine immunelektrophoretische Analyse in der Immunelektrophorese (IEP).

3.1.9 Antiserumgewinnung in Kaninchen

Für die Gewinnung von Antiseren wurden Kaninchen mit den isolierten Immunglobulinen (Antigen) immunisiert.

Je Kaninchen wurde 1 ml Antigenlösung bestimmter Immunglobulinkonzentration mit 1 ml komplettes Freundsches Adjuvans (KFA) gemischt. Hierzu wurde die Mischung wiederholt in einer 5 ml-Spritze aufgezogen und durch eine 1 mm-Kanüle ausgespritzt, bis eine stabile Emulsion erreicht wurde.
Die 2 ml Antigenlösung in KFA wurde zu gleichen Teilen subcutan (s.c.) in die Fußballen der vier Extremitäten injiziert.

Nachfolgende Immunisierungen erfolgten mit steigender Antigenkonzentration in 14-tägigem Abstand. Für die erste Booster-Inokulation wurde wiederum die Antigenlösung mit KFA zu gleichen Teilen gemischt. Für weitere Boosterinjektionen wurde inkomplettes Freundsches Adjuvans (IFA) verwendet.

Die für die Immunisierung verwendete Antigenmenge betrug 20 µg (s.c. Fußballen aller vier Extremitäten = 1. Inokulaion), 20 µg (s.c. Unterbauch = 2. Inokulation), 40 µg (s.c. Rücken = 3. Inokulation) und 40 µg (s.c. Unterbauch = 4. Inokulation) Protein.

Für die Immunisierung mit Immunglobulin-M wurde die einem Molekulargewicht von 900-1000 Kilodalton (Kd) entsprechende Fraktion aus 12 Gelkörpern der SDS-PAGE herausgeschnitten, zerkleinert und durch Ultraschall im Eisbad homogenisiert. Die Homogenisierung erfolgte unter Zugabe von 1 ml PBS, pH 7,2, und 1 ml KFA bzw. IFA. Zur Immunisierung mit IgG und damit zur Gewinnung von Anti-IgG-Kamel gelangte aufgrund der Charakterisierungen die im Anfangseluat (1 mM) enthaltene Fraktion aus der Chromatographie mit DEAE-Zellulose.

10 Tage nach der zweiten Booster-Inokulation wurde der Antikörpertiter zum ersten Mal in der Doppelimmundiffusion (DID) nach OUCHTERLONY (1959) bestimmt.
Bei einem Antikörpertiter von 1:16 gegenüber Normalserum wurde auf eine weitere Immunisierung verzichtet. In der Regel waren drei Booster-Inokulationen notwendig.

Die Spezifität* der Antiseren wurde in der Immunelektrophorese (IEP) und in der Radialimmundiffusion (RID) nach MANCINI et al. (1965) überprüft. In der RID waren keine Kreuzreaktionen festzustellen.

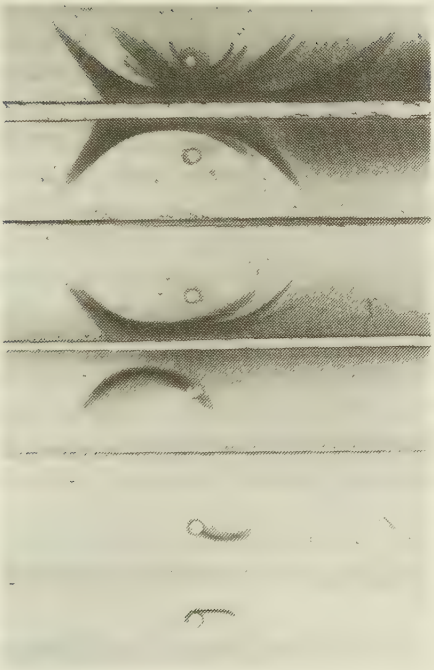
Die folgende Abbildung zeigt das Präzipitationsverhalten der Antiseren in der Immunelektrophorese (IEP).

Nach ausreichender Immunisierung wurden die Kaninchen getötet und entblutet. Die Immunseren wurden 24 Stunden später durch Zentrifugieren von den geronnenen Blutbestandteilen getrennt.

Die zu konjugierenden Immunglobulin-G Fraktionen der Kaninchen-Immunseren wurden in der Affinitätschromatography mit Staphylokokkenzellwandprotein (Protein-A) isoliert (GOUDSWAARD et al., 1978).

---

* Kreuzreaktion in der Familie 'Camelidae' zwischen der Gattung 'Camelus' und der Gattung 'Lama': In der IEP reagierte Antiserum Kamel (Camelus dromedarius) mit Normalserum Alpaka (Lama pacos) und umgekehrt.



PRÄZIPITATIONSVERHALTEN DER ANTISEREN
IN DER IMMUNELEKTROPHORESE (IEP)
(-) (+)

1,5 g gefriergetrocknetes Protein-A-Sepharose CL-4B (Pharmacia Fine Chimcals) wurde in Aqua dest. gelöst (ad. 5 ml) und nach 30 Minuten in eine LKB-Säule (Ø 10 mm x 150 mm) überführt. Das gequollene Gel (ca. 3,5 ml) wurde mit PBS, pH 7,2, in der Säule equilibriert.
10 ml Immunserum, 24 Stunden gegen PBS dialysiert, wurde aufgegeben und bei geringer Flußrate (0,2 ml/min) über die Säule rezirkuliert. Nach ca. 2 Stunden wurde die Gelsäule mit PBS gewaschen und das gebundene Immunglobulin-G mit einem 0,1 m Glycine-Puffer, pH 2,5, eluiert. Das gewonnene Eluat wurde umgehend mit gesättigter Tris-Lösung neutralisiert.

Die Immunglubolin-G Fraktion wurde daraufhin gegen 0,01 M Carbonat-Puffer, pH 9,6, dialysiert, durch Diaflo-Ultrafiltration (PM 30, Amicon, Canada) auf 10 mg/ml Protein eingeeingt, portioniert und bis zur Konjugation bei -20°C gelagert.

Eine Analyse der Fraktion aus dem Kaninchen-Immunserum erfolgte in der Immunelektrophorese (IEP).

3.1.10 Peroxidase-Konjugation

Die Konjugation wurde in Anlehnung an die von WILSON und NAKANE (1978) beschriebene Perjodate-Methode durchgeführt.

10 mg Merrettich-Peroxidase (Serva, 1000 Units/mg, RZ: 3,0) wurde in 1,8 ml Aqua dest. gelöst. Daraufhin erfolgte eine tropfenweise Zugabe von 0,2 ml frisch angesetzter 0,1 M Natriumperjodat (NaJ_4)-Lösung. Die Lösungen wurden bei Raumtemperatur für 30 Minuten vermischt und anschließend über Nacht bei 4°C gegen einen 0,001 M Natriumazetat-Puffer (pH 4,4) dialysiert.

Im gleichen Zeitraum wurde die zu konjugierende Immunglobulin-G Fraktion des Immunserums gegen einen 0,01 M Carbonat-Puffer (pH 9,6) dialysiert.

Unmittelbar vor Zugabe der Immunglobulin-G Fraktion wurde der pH-Wert der Enzymlösung mit einem 0,2 M Carbonat-Puffer (pH 9,6) ebenfalls auf 9,6 angehoben.
Es wurde ein Enzym/Protein-Verhältnis von 1:4 gewählt, d.h. der Enzymlösung (10 mg Ausgangsmenge) wurden 3 ml der Immunglobulin-G Fraktion (10 mg Protein pro ml) zugesetzt.
Die Lösungen wurden auf einem Rotationsmixer schonend bei Raumtemperatur vermischt.

Nach 2 Stunden wurde der pH-Wert mit einer 0,1 N HCl-Lösung auf 7,2 abgesenkt.
Zur Absättigung von ungebundenem Enzym erfolgte eine Zugabe von 0,4 ml frisch angesetzter Glycin-Lösung (8 mg/ml). Eine Abtrennung von konjugiertem Immunglubolin von nicht konjugiertem Immunglubolin in einer Gelfiltration wurde nicht durchgeführt.
Geformte Präzipitate wurden durch eine Ultrazentrifugation von 32000 g bei 4°C entfernt.

Die Lagerung des Konjugats erfolgte in einem lichtundurchlässigen Glasbehältnis unter Zusatz von Natriumaszid (0,05%) bei 4°C. Unter diesen Bedingungen war eine Lagerung von über einem Jahr ohne merklichen Aktivitätsverlust möglich.

3.1.11 Antikörper im Serum und im Liquor cerebrospinalis im ELISA

Zum Nachweis von trypanosomalen Antikörpern aus der Immunglubolin-G- und der Immunglubolin-M Klasse im Serum und in dem Liquor cerebrospinalis wurde der Enzym-Linked Immunosorbent

Assay (ELISA) auf Polystyrol-Mikrotiterplatten (M29 A, Flachboden, Dynatech Lab.) durchgeführt.

Als Antigen wurde ein Extraktantigen aus dem Infektionsmaterial (Klon 1) des Ausgangsstabilats KETRI 2443 gewonnen. Klon 1 wurde in 10 bestrahlten BALB/C-Mäusen inokuliert. Kurz vor Erreichen des ersten Parasitämiepeaks wurden die Mäuse unter Äthernarkose durch Herzpunktion entblutet. Die Trypanosomen wurden nach der Methode von LANHAM und GODFREY (1970) aus dem heparinisierten Blut isoliert. Das heparinisierte Blut wurde 1:3 in Phosphatpuffer-Glucoselösung (PSG) verdünnt und auf eine mit PSG equilibrierte Anionen-Austauschersäule (Diethylaminoethyl-Zellulose, DEAE-52, Whatman, GB) mit einem Durchmesser von 60 mm und einer Höhe von 50 mm geschichtet. Unter Kontrolle des Eluats im Mikroskop wurde eine erythrozytenfreie Trypanosomensuspension gewonnen. Zur Entfernung von Serumbestandteilen wurden die Parasiten in PSG mit 1000 g für 10 Minuten gewaschen. Nach dreimaliger Waschung wurden die Parasiten in 10 ml PBS resuspendiert.
Ein Aufbrechen der Trypanosomen und Extraktion des Antigens erfolgte in einem dreimaligen Gefrier- und Auftauvorgang.
Die so gewonnene Suspension wurde für 30 Minuten in einer Ultrazentrifuge mit 32000 g bei 4°C zentrifugiert. Der Proteingehalt des Überstandes wurde mit der Biuret-Methode ermittelt, die Lösung portioniert und bei -20°C gelagert.

Die Beschichtung der Mikrotierplatten mit dem Extraktantigen erfolgte in 0,01 M Carbonat-Puffer mit 0,02% NaN_3 (pH 9,6) mit einer Mehrkanalpipette (50 µl). Die so beschichteten Platten wurden für 2 Stunden bei 37°C inkubiert und anschließend über Nacht bei 4°C gelagert.

Die optimale Antigenverdünnung wurde wie folgt ermittelt. Hierzu wurde eine Mikrotiterplatte in 5 Felder unterteilt und mit 5 unterschiedlichen Antigenkonzentrationen von 1 bis 30 µg Protein pro ml Puffer beschichtet. Als Serum wurden Referenz-

seren nicht infizierter bzw. infizierter Kamele genommen. Die Antigenverdünnung mit der größten Absorptionsdifferenz zwischen positivem und negativem Referenzserum wurde für die Untersuchung eingesetzt.
Die ermittelten optimalen Antigenkonzentrationen lagen zwischen 5 und 30 µg Protein pro ml.

Nach Beendigung der 12-stündigen Inkubation wurde die Antigenlösung aus den Platten ausgeschüttelt und noch antigenfreie Polystyroloberflächen durch eine 24-stündige Inkubation mit 0,2% Rinderalbumin (BSA) in PBS, 0,02% NaN_3, bei 4°C geblockt.

Vor Aufgabe der Serum- bzw. Liquorverdünnungen wurden die Platten 3 x mit PBS/Tween-20 (0, 5%) gewaschen.

Die Serumverdünnungen wurden mit einer Mehrkanalpipette (6 x 50 µl) in der Mikrotiterplatte in PBS mit 0,2% Rinderserumalbumin (BSA) und 0,5% Tween-20 angelegt.
Als Kontrollseren dienten Referenzseren nicht infizierter bzw. infizierter Kamele. Die so beschichteten Platten wurden mit Parafilm abgedichtet und bei 37°C für 2 Stunden inkubiert.

Nach erneutem dreimaligem Waschen wurde die Konjugatverdünnung aufgegeben (50 µl). Die Inkubation und der Waschvorgang erfolgte stets unter gleichen Bedingungen.

Für die Ermittlung der optimalen Konjugatverdünnung wurde ein sogenanntes "Checkerboard" angelegt.
Die Platten wurden mit der optimalen Antigenverdünnung beschichtet, mit BSA geblockt und von H nach A mit steigenden Serumverdünnungen (positives Kontrollserum) beschickt. Von 2 nach 12 wurde eine Konjugatverdünnung von 1:50 bis 1:9600 angelegt. Nach Entwicklung der Reaktion durch Substratzugabe wurde die optimale Konjugatverdünnung gewählt.
Zum Nachweis von Antikörpern im Serum wurde mit Konjugatverdünnungen von 1:100 (IgM) bis 1:300 (IgG) gearbeitet. Bei der

Untersuchung der Liquorproben wurden Konjugatverdünnungen von 1:20 (IgM) bis 1:50 (IgG) eingesetzt.

Als Peroxidase-Indikator wurde 2,2-Acino-di-(3-Aethyl-Benzothiazolin-6-Sulfonsäure) (= ABTS, Boehringer Mannheim) verwendet. Für eine Platte (50 µl pro Probenloch) wurden benötigt:

5 ml	0,05 M Citrate Lösung, pH 4
0,025 ml	ABTS (55,8 mg ABTS ad. 12,5 ml A. dest.) (Stammlösung, 2-3 Monate bei 4°C haltbar)
0,020 ml	0,5 M H_2O_2 (0,5 ml 8 M H_2O_2 [30%] ad. 8 ml A. dest.)

Nach einer Einwirkungszeit von 30 Minuten in einem dunklen Raum wurde die Absorption photometrisch bei 405 nm im Titertek gemessen.

Als positiver Titer war diejenige Verdünnungsstufe des Serums anzusehen, die photometrisch gerade noch einen stärkeren Absorptionswert angab, als die des negativen Kontrollserums.

3.2 Ergebnisteil

3.2.1 Parasitologische Befunde

Bei allen Kamelen konnten am 4. Tag nach der Infektion Trypanosomen in der Hämatokrit-Zentrifugen-Technik (HCT) nachgewiesen werden. Nur Kamel 51 zeigte bereits am 3. Tag post infectionem (p.i.) Parasiten im Jugularvenenblut.

Eine quantitative Auszählung war erst ab dem 5. Tag p.i. möglich. Ergab sie am 5. Tag p.i. noch 1×10^6 Parasiten pro ml Blut, so stieg die Erregerzahl am 6. Tag auf 1×10^7 und am 7. Tag p.i. auf 8×10^7 Parasiten pro ml Blut.
Bereits am 8. Tag p.i. kam es zu einem Abklingen des ersten Parasitämiepeaks. Am 10. Tag p.i. war meist nur noch ein qualitativer Nachweis in der HCT möglich.

Dem ausgeprägten Initialpeak folgten nun, beim einzelnen Tier nur um Tage versetzt, weitere Parasitämiewellen. Bei den Kamelen aus der Behandlungsgruppe C und D kam es in der zweimonatigen Infektionsperiode zu 4 bis 6 meist deutlich voneinander abgesetzten Parasitämien.

2 bis 3 Monate p.i. kam es bei den Kamelen aus der positiven Kontrollgruppe zu einer Abnahme der Peakfrequenz und zu einem geringgradigen Rückgang in der Parasitämiehöhe, so daß nach 3 Monaten auch der qualitative Parasitennachweis in der HCT nicht an allen Tagen möglich war.

Während nach der Chemotherapie mit der HCT keine Parasiten nachgewiesen wurden, konnte durch Überimpfen von Jugularvenenblut auf bestrahlte Mäuse in zwei Fällen Trypanosomen isoliert werden: Bei Kamel 97 am 42. Tag nach der Chemotherapie (12 mg/kg KGW Naganol) und bei Kamel 105 am 68. Tag nach der Behandlung (6 mg/kg KGW Naganol). Die Patenz dieser Parasitenpopulation war offenbar kurz, da sich Trypanosomen in anschließenden

Inokulationsversuchen von Jugularvenenblut in Mäusen nicht anzüchten ließen.

Aus dem Liquor cerebrospinalis konnten Trypanosomen vor der Chemotherapie durch Überimpfen von blutfrei gewonnenen Punktaten auf letal bestrahlte Mäuse 4, 5, und 24 Wochen nach der Infektion der Kamele isoliert werden.
Nach der Chemotherapie mit Nagonal und Arsobal war im Liquor cerebrospinalis und in den Punktaten aus anderen extravaskulären Räumen (Synovialraum, vordere Augenkammer) auch mit der Mäuseinokulationstechnik kein Parasitennachweis möglich.

3.2.2 Klinischer Verlauf

Die Tiere zeigten vor Versuchsbeginn ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Die Futteraufnahme war gut. Die morgendliche Rektaltemperatur betrug zwischen 36,0° und 37,5°C.

Vier Tage nach der Infektion, zeitgleich mit dem Auftreten des ersten Parasitämieschubs, stieg die Rektaltemperatur. Am 5., 6. und 7. Tag p.i., mit Erreichen des ersten parasitämischen Gipfels, wurden Temperaturen bis zu 40°C gemessen.

Am Morgen des 5. Tages verharrten die meisten Kamele in Brustlage, ihre Anteilnahme an der Umgebung war stark herabgesetzt. Kraftfutter wurde mäßig und meist nur im Liegen aufgenommen.

Am 6. Tag p.i. verweigerten die Tiere Kraftfutter. Das Haarkleid war aufgerichtet. Bei einigen Tieren hatten sich Lid-, Unterbauch-, Skrotal- und Vordergliedmaßenoedeme gebildet. Die Vordergliedmaßenoedeme beschränkten sich auf die Klauenballen und Fesseln.
Besonders starke Oedembildung zeigten die Kamele 97, 68, 67, 100, 105 und 108.

Bei Tieren mit hoher Rektaltemperatur wurde nach Auftreiben starkes Flankenzittern beobachtet.

Mit dem Abfall der Erregerkonzentration war eine rasche Temperaturabnahme und eine deutliche Verbesserung des Allgemeinbefindens verbunden . In der Krisis trat oft Durchfall auf.

In den Parasitämietälern wurden präinfektionelle Rektaltemperaturen erreicht. Die Futteraufnahme war gut, der Kotabsatz normal, die Kamele machten den Eindruck von gesunden Tieren.

Die distalen Oedeme, besonders die Abdominal- und Gliedmaßenoedeme, bildeten sich nur geringgradig zurück. Mit jedem neuen Parasitämieschub wiederholten sich die beschriebenen klinischen Symptome. Die Oedemausbildung verstärkte sich (Foto 1a und 1b). Nach vierwöchiger Infektionsdauer war bei vielen Tieren schon adspektorisch ein Gewichtsverlust erkennbar. Die aus den Körperabmessungen bestimmten Gewichtsveränderungen über den gesamten Versuchszeitraum können der Tabelle 1 entnommen werden. Mit Ausnahme der Jungtiere verloren alle Kamele während des Infektionsverlaufes an Körpergewicht (KGW). Bei den Jungtieren kam es zu einer Verlangsamung der Gewichtszunahmen.

Die deutlichsten Klinischen Erscheinungen zeigten sich bei Kamel 97. Es kam zu einer fast vollständigen Rückbildung des Höckers, die Konturen der Rippenbögen zeichneten sich am Ende der zweimonatigen Infektionsperiode deutlich ab.
Das Unterbauchoedem hatte sich vom Zwischenschenkelspalt bis zur Regio umbilicalis beiderseits der Linea alba handspannenweit ausgebreitet. Die Konjunktivalschleimhäute waren von blasser Färbung (Foto 2b). Im letzten Drittel der Infektion, geprägt durch die lange Plateau-Parasitämie, kam es zu einer rapiden Verschlechterung des Allgemeinbefindes, so daß dieses Tier zwei Tage vor dem angesetzten Behandlungstermin am 54. Tag p.i. behandelt werden mußte.

Der Allgemeinzustand der positiven Kontrolltiere verbesserte sich auch ohne Behandlung drei bis vier Monate nach der Infektion. In Zeitpunkten neuer parasitämischer Gipfel wurde eine Rektaltemperatur von 38°C nur noch selten überschritten. Die Futteraufnahme war ungestört. Die Oedeme bildeten sich geringgradig zurück.

Bis zwei Stunden nach der Chemotherapie mit Arsobal (3,5 mg/kg KGW) wurde bei den Tieren aus der Gruppe D geringgradiger Tränen- und Speichelfluß sowie Flankenzittern beobachtet. Nach der Behandlung mit Naganol (12 mg/kg KGW) traten keine unmittelbaren Veränderungen im klinischen Bild der Tiere auf.

Am Tag nach der Behandlung betrug die Rektaltemperatur zwischen 36,0°C und 37,7°C. Trypanosomen ließen sich durch Inokulation von Jugularvenenblut in bestrahlte Mäuse nicht mehr anzüchten. Alle Tiere machten einen lebhaften Eindruck und zeigten gute Futteraufnahme.

Je nach Ausprägung hatten sich die Gliedmaßenoedeme am 2. bzw. am 3. Tag, die Unterbauchoedeme am 6. Tag nach der Behandlung zurückgebildet.
Die Gewichtsverluste wurden in kurzer Zeit wieder ausgeglichen.

Tabelle 1:
ENTWICKLUNG DES KÖRPERGEWICHTS IM VERSUCHSZEITRAUM IN KG

Gruppe	Kamel-nummer	Versuchs-beginn	53 Tage p.i.	147 Tage p.i.	185 Tage p.i.
A					
Negative	38	368,2	378,0	366,5	367,7
Kontrolle	93	328,4	361,0	362,5	376,7
B					
Positive	55	315,9	304,8	280,1	273,8
Kontrolle	105*	251,2	279,6	264,6	278,8
	108*	225,7	246,2	230,5	241,9
C					
Behandlung	51	372,6	369,4	392,1	410,1
mit	67	360,6	356,6	426,3	450,0
Naganol	70	413,0	399,1	408,6	419,6
	96*	270,0	285,6	291,1	317,2
	97	328,7	288,8	335,0	359,6
D					
Behandlung	43	414,7	384,8	415,0	430,3
mit	54	395,1	372,2	409,8	406,3
Arsobal	65	370,0	348,0	365,0	386,2
	68	416,0	401,0	395,5	424,3
	100*	275,0	297,0	319,33	331,1

*Jungtiere

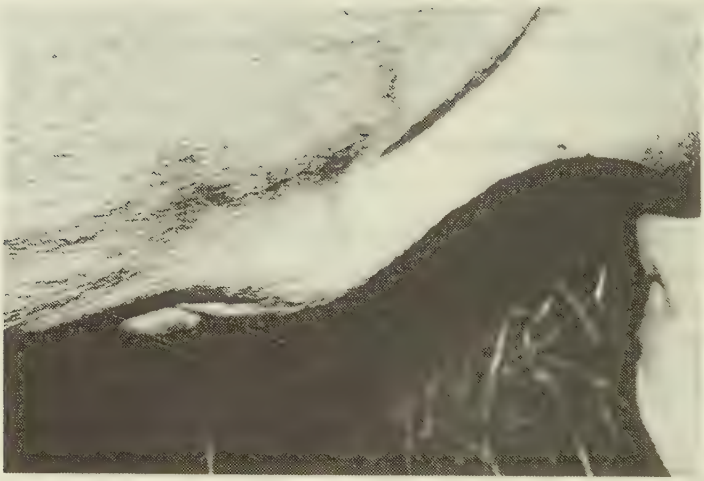


Foto 1a

Foto 1b

Foto 1a und 1b:
Ausbildung eines Abdominaloedems (a) und eines Gliedmaßenoedems (b) bei Kamel 97, ca. 8 Wochen nach Infektion mit T. evansi.

Foto 2a

Foto 2b

Foto 2a und 2b:
Konjunktivalschleimhaut eines nicht infizierten (a) und eines mit T. evansi infizierten (b) Kamels 8 Wochen p. i.

3.2.3 Hämatologische Veränderungen

Die T.evansi-Infektion führte bei den Kamelen zu ausgeprägten Veränderungen im roten und weißen Blutbild.

Bei allen Tieren erfolgte bereits 4-6 Tage p.i. eine Abnahme des gepackten Zellvolumens der Erythrozyten (PCV).
Mit jeder neuen Parasitämie kam es zu einem Abfall und mit jeder Erregerzahlabnahme zu einer zeitweiligen Normalisierung des PCV. Die Abnahme während des zweimonatigen Infektionszeitraums war individuell unterschiedlich ausgeprägt. So fiel das gepackte Zellvolumen von Kamel 97 von 28% auf 11%; von Kamel 51 von 28% auf 21%. Bei den Jungtieren der positiven Kontrollgruppe - Kamele 105 und 108 - kam es im letzten Drittel der Infektion (4.-6. Monat p.i.) sogar wieder zu einer geringgradigen Erholung des PCVs. Der Verlauf des PCV von allen Tieren ist in den Abbildungn 1-15 ersichtlich.

Die ermittelte Zahl der Erythrozyten (RBC) belief sich bei den Versuchstieren am Tage der Infektion auf 8,2 bis 10,2 x 10^{12} pro Liter Blut und fiel während der Infektion auf Werte von 3,9 bis 8,5 x 10^{12}/l Blut ab (Abb. 1-15).

Das mittlere Erythrozytenvolumen (MCV) änderte sich mit fortschreitender Anämie nicht.

Die Veränderungen im Hämoglobingehalt (Hb) entsprechen der Entwicklung des gepackten Zellvolumens und der Erythrozytenzahl. Die präinfektionellen Hämoglobingehalte lagen bei 12,5 und 16 g pro 100 ml(dl) Blut. Am 56. Tag p.i. lagen die individuellen Hämoglobingehalte zwischen 5,7 und 11,8g/dl (Abb. 1-15).
Der Hämoglobingehalt im Blut von Kamel 97 fiel während der Infektion von 13,2 auf 5,7 g/dl ab.

Die Gesamtleukozytenzahl (WBC) der Versuchtstiere folgte einer einheitlichen Kinetik.
Vor der experimentellen Infektion belief sich die Gesamtleukozytenzahl auf Werte zwischen 13,8 und 21,6 x 10^9 pro Liter Blut. Mit der ersten Parasitämie kam es zu einem raschen Abfall auf Werte bis zu 5,5 x 10^9/l und mit dem Absinken der ersten Erregerpopulation zu einem steilen Anstieg der Leukozytenzahl. Diese Dynamik setzte sich über die folgenden Parasitämien in der Weise fort, daß dem Abfall ein stärkerer Anstieg folgte. Nach ca. 4 Wochen hatte sich die Gesamtleukozytenzahl auf Werte zwischen 25 und 30 x 10^9/l stabilisiert (Abb. 1-15). Diese Stabilisierung ist besonders deutlich bei den positiven Kontrolltieren über den gesamten Infektionszeitraum von sechs Monaten zu erkennen.

Da eine vollständige Auswertung der Blutausstriche nicht erfolgte, können genaue Angabe über Veränderungen im Differentialblutbild nicht gemacht werden. Untersuchungen von Blutausstrichen einzelner Tiere zeigten jedoch die Tendenz, daß schon wenige Wochen p.i. die Anteile der Lymphozyten stark anstiegen.

Je nach Ausprägung erreichten die Parameter des roten Blutbildes 1 bis 2 Monate, bei einigen Tieren erst 3 Monate nach der Chemotherapie, ihre präinfektionellen Ausgangswerte.

Bei der Gesamtleukozytenzahl kam es durch die Behandlung zu einer Art Boostereffekt, d.h. die Leukozytenzahl stieg noch einmal kurzfristig, bevor sie sich langsam über einen Zeitraum von 1 bis 2 Monate auf präinfektionelle Werte einstellte.

Legende zu den Abbildungen 1 - 15:

Parasitologische, hämatologische und serologische Veränderungen bei Kamelen im Verlaufe einer experimentellen Trypanosoma evansi-Infektion.

Gruppe **A** : Negative Kontrollkamele
38, 93 (Abb.: 1 und 2)

Gruppe **B** : Positive Kontrollkamele
55, 105, 108 (Abb.: 3 - 5)

Gruppe **C** : Kamele behandelt mit Naganol
51, 67, 70, 96, 97 (Abb.: 6 - 10)

Gruppe **D** : Kamele behandelt mit Arsobal
43, 54, 65, 68, 100 (Abb.: 11 - 15)

Infektionszeitpunkt (1000 Tryp. pro kg KGW i.v.)

Behandlung mit Naganol (12 mg/kg KGW i.v.) oder Arsobal (3,5 mg/kg KGW i.v.).
Die Kamele der positiven Kontrollgruppe - 55, 105, 108 - wurden gegen Ende der experimentellen Untersuchung mit der halben Dosis Naganol (6 mg/kg KGW i.v.) behandelt.

TAGE P. I. Tage nach der Infektion

Semiquantitative Untersuchung auf Trypanosomen in der Hämatokrit-Zentrifugentechnik (HCT):
im Jugularvenenblut
Trypanosomen positiv
Trypanosomen negativ
in der Liquor cerebrospinalis (CSF)
Trypanosomen positiv
Trypanosomen negativ

PARA. (ml^{-1})	Anzahl der Trypanosomen pro Milliliter Blut
TEMP. (°C)	Morgendliche Rektaltemperatur in °C
PCV (%)	Gepacktes Zellvolumen in %
WBC ($x10^9/L$)	Gesamtleukozytenzahl X 10^9 / Liter Blut
IGG-AB IN CSF	Trypanosomen-spezifische Antikörpertiter der IgG-Klasse in der Cerebrospinalflüssigkeit (CSF)
IGG-AB	Trypanosomen-spezifische Antikörpertiter der IgG-Klasse im Serum
IGM-AB	Trypanosomen-spezifische Antikörpertiter der IgM-Klasse im Serum

Abbildung 1:

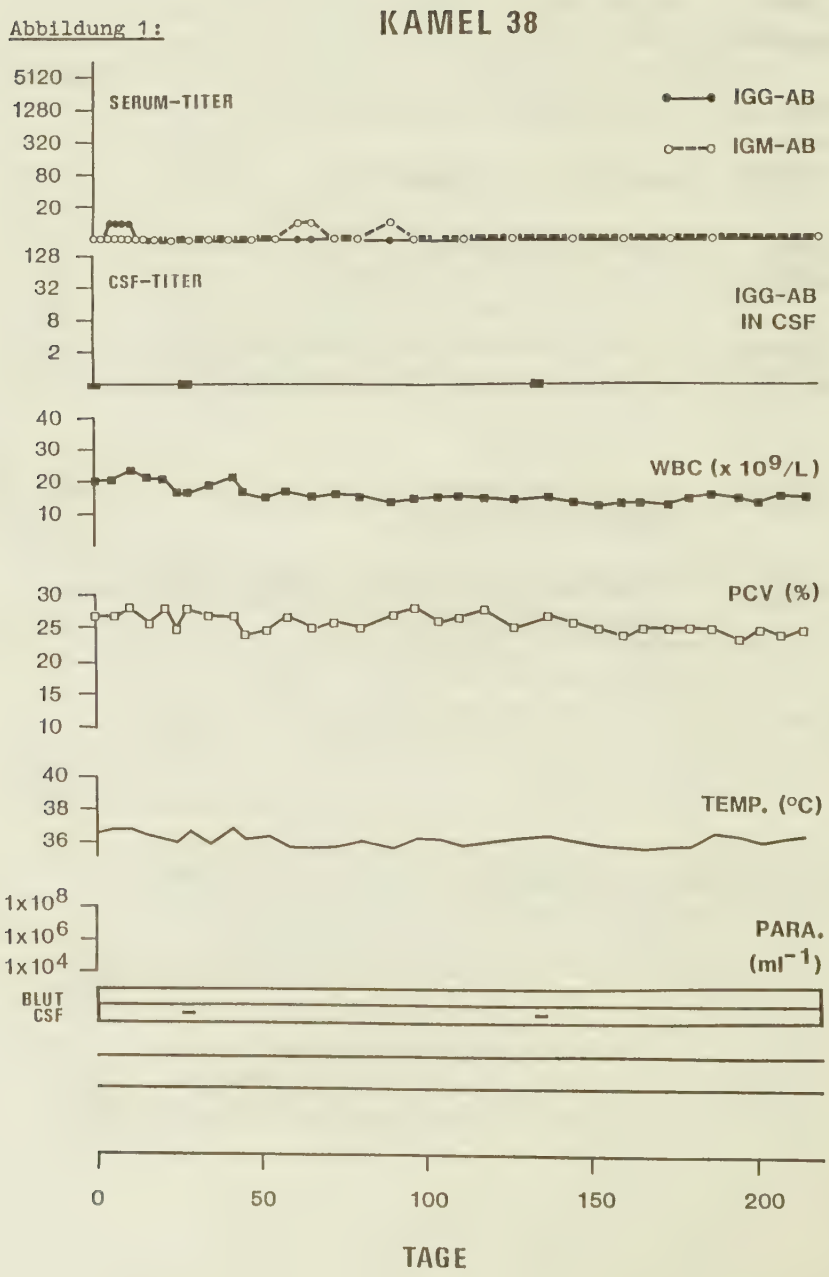

KAMEL 38
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
0
50
100
150
200
TAGE

Abbildung 2:

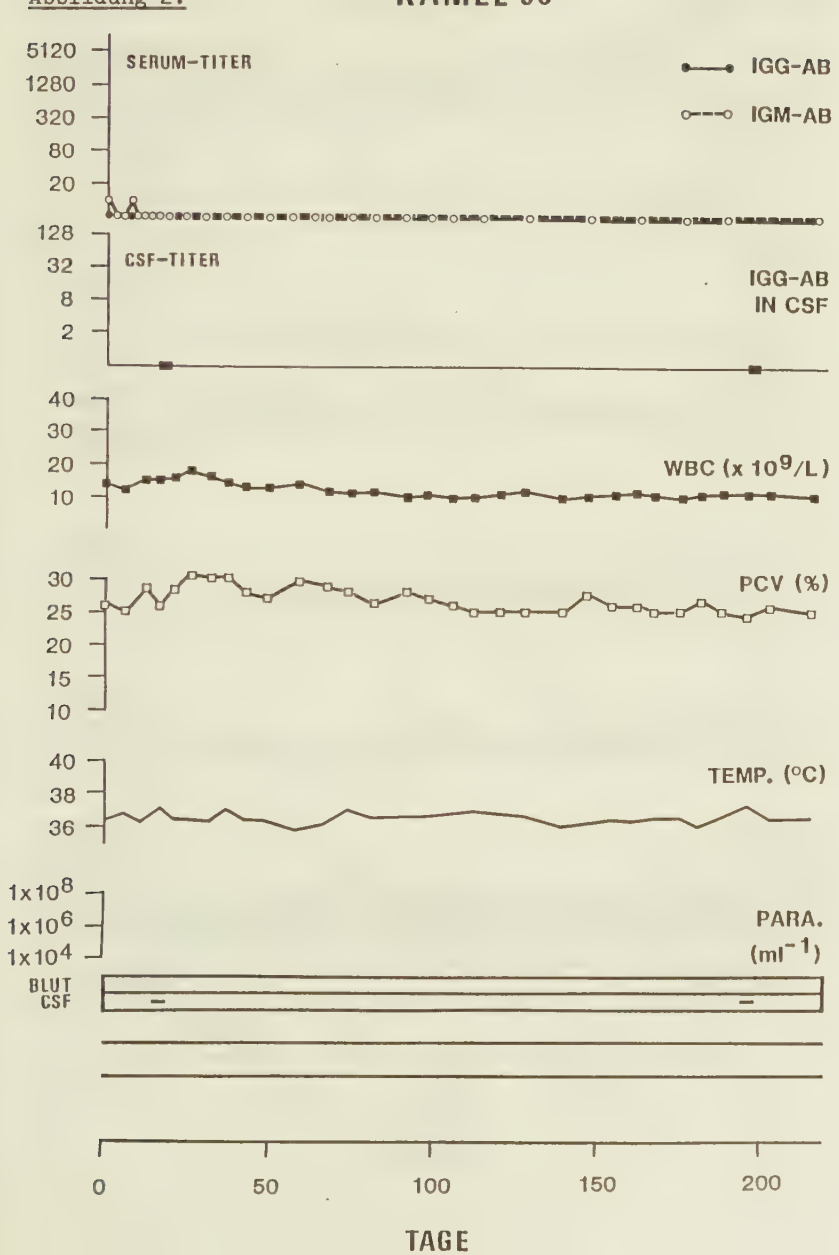

KAMEL 93
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
0
50
100
150
200
TAGE

Abbildung 3:

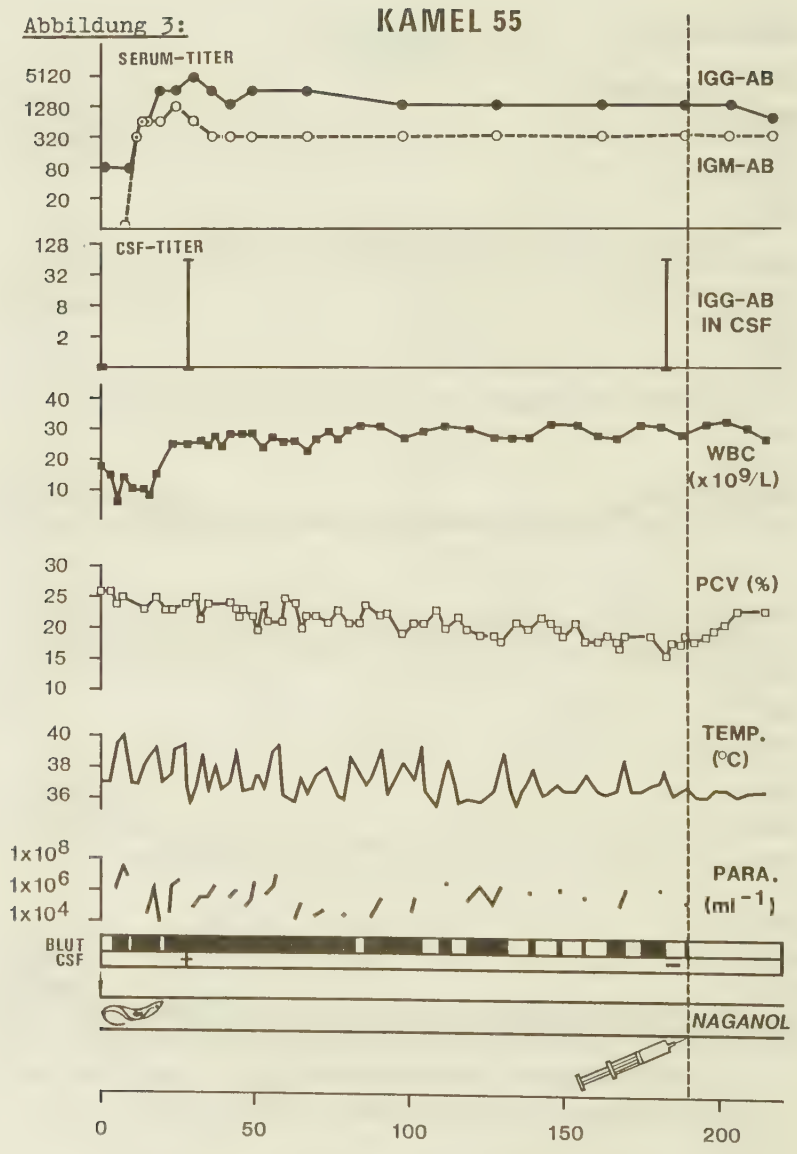

KAMEL 55
SERUM-TITER
5120
1280
320
80
20
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC
(x10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP.
(°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
+
−
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 4:

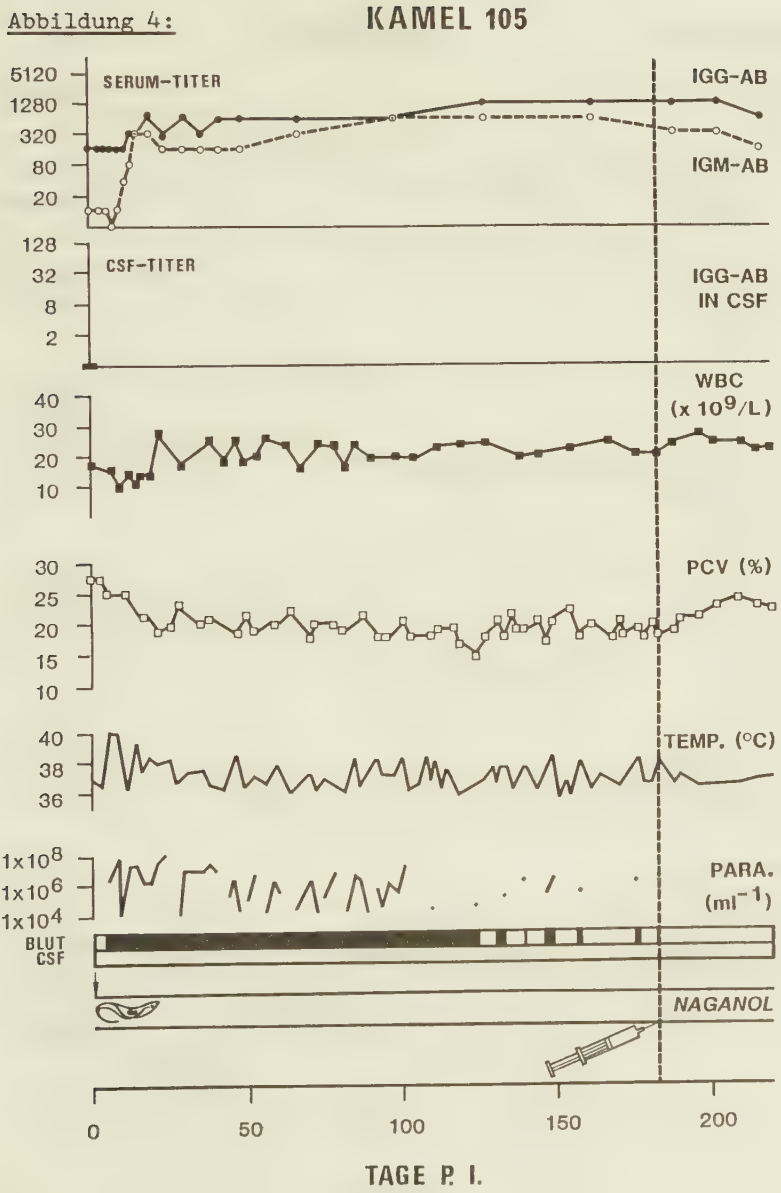

KAMEL 105
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC
(x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 5:

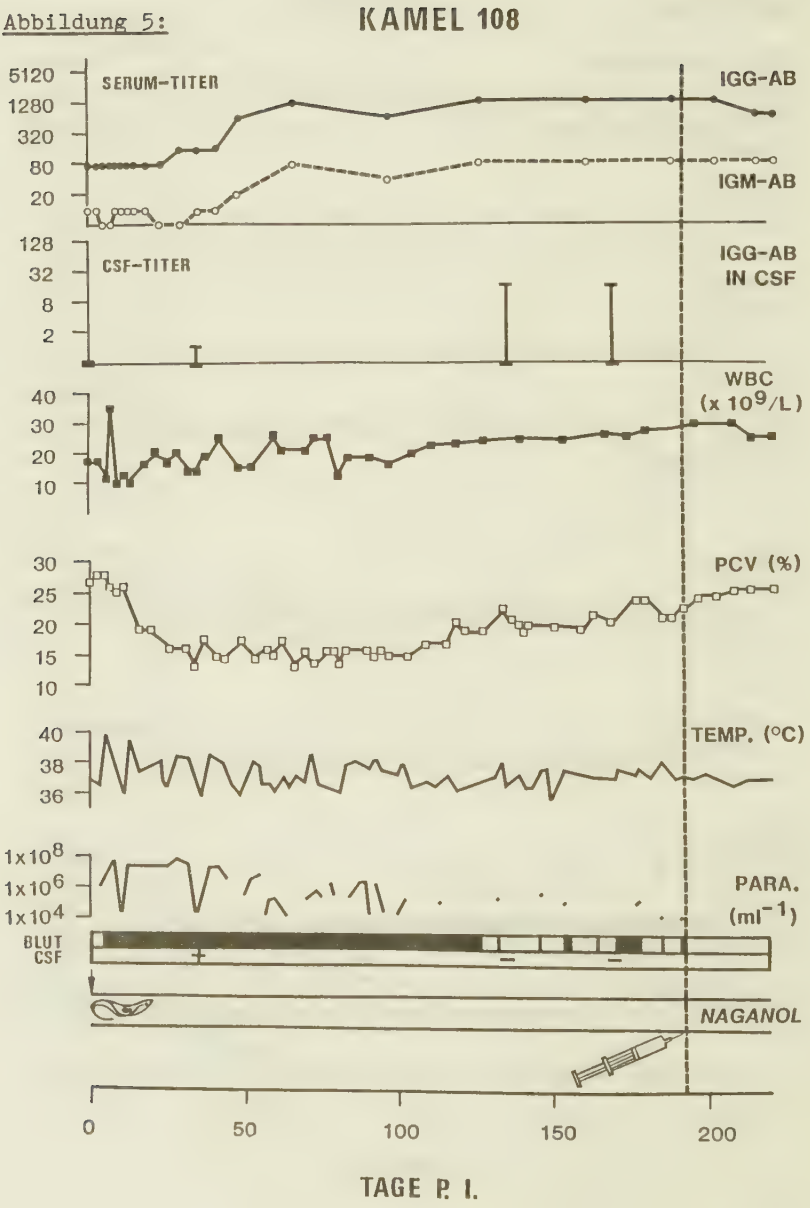

KAMEL 108
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC
(x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
+
−
−
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 6:

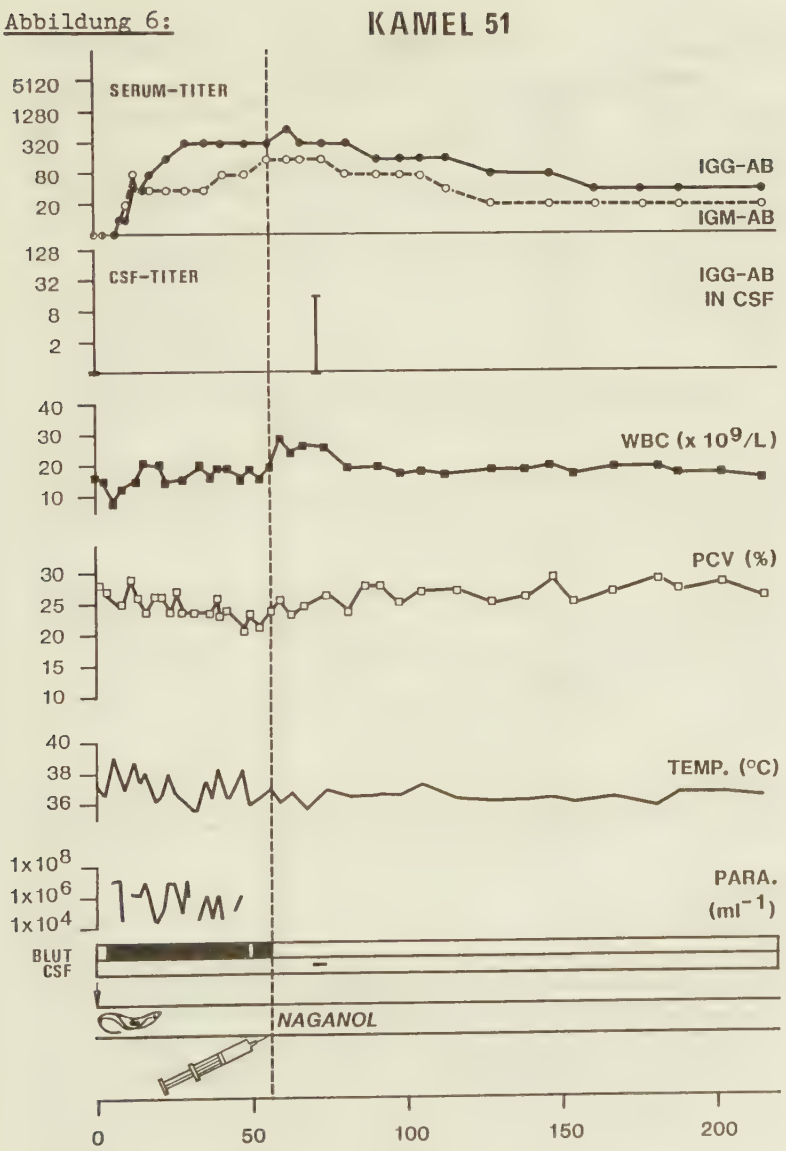

KAMEL 51
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 7:

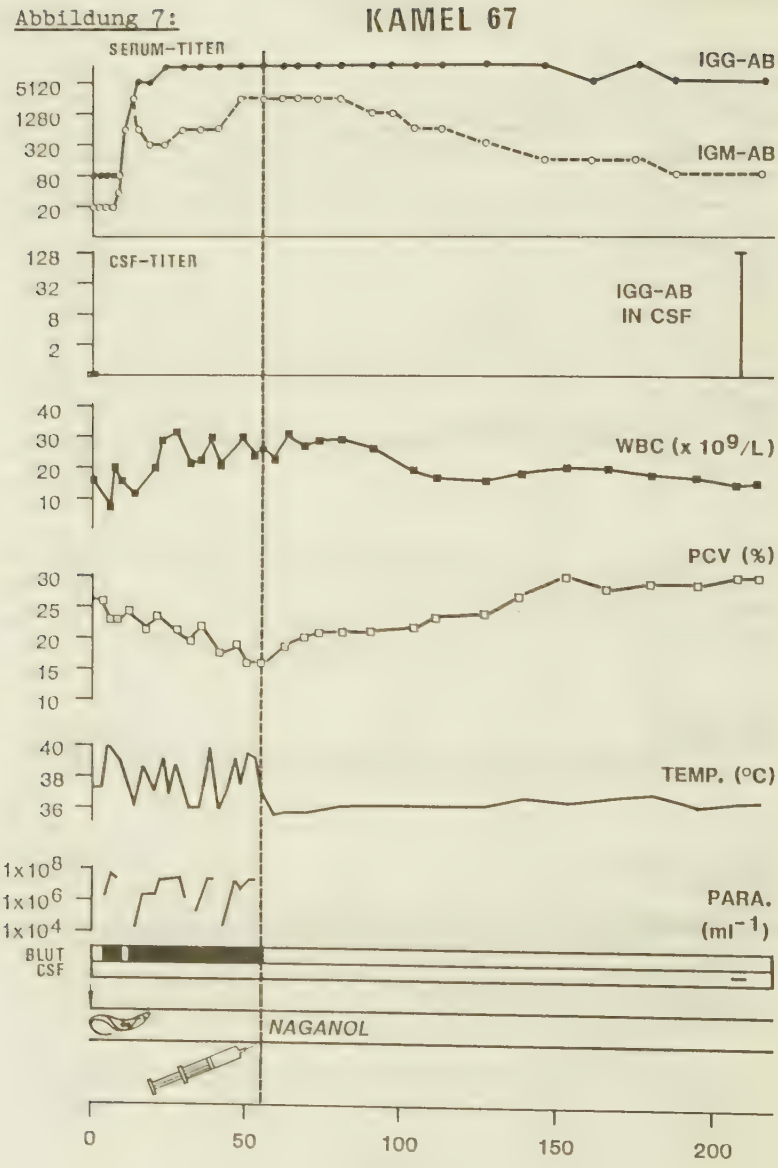

KAMEL 67
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
5120
1280
320
80
20
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
PCV (%)
30
25
20
15
10
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 8:

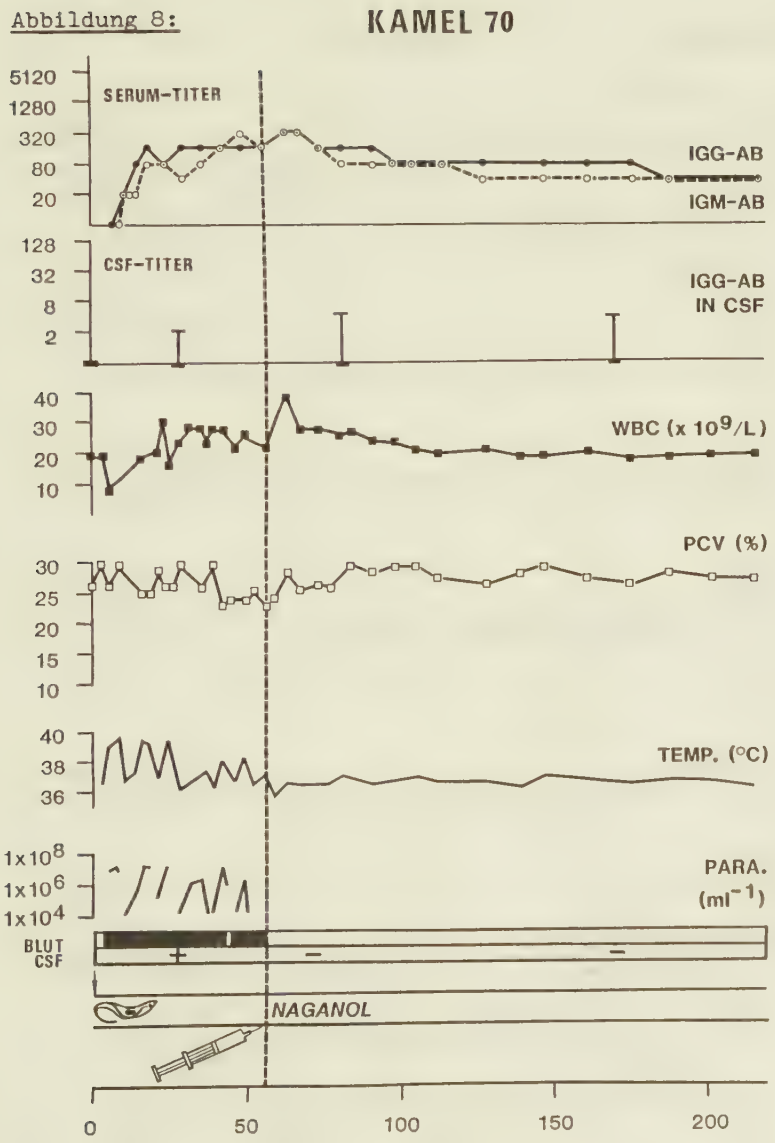

KAMEL 70
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
PCV (%)
30
25
20
15
10
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
PARA.
(ml⁻¹)
BLUT
CSF
+
−
−
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 9:

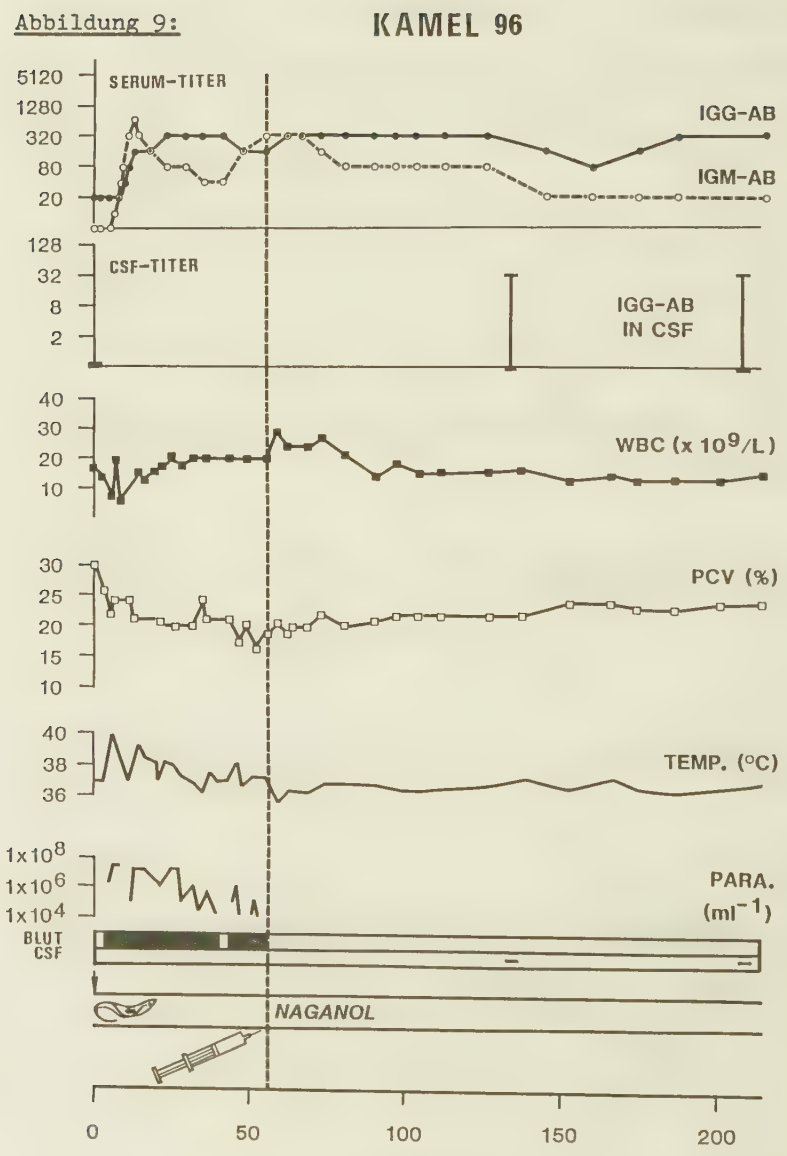

KAMEL 96
5120
1280
320
80
20
SERUM-TITER
IGG-AB
IGM-AB
128
32
8
2
CSF-TITER
IGG-AB
IN CSF
40
30
20
10
WBC (x 10⁹/L)
30
25
20
15
10
PCV (%)
40
38
36
TEMP. (°C)
1x10⁸
1x10⁶
1x10⁴
BLUT
CSF
PARA.
(ml⁻¹)
NAGANOL
0
50
100
150
200
TAGE P. I.

Abbildung 10:

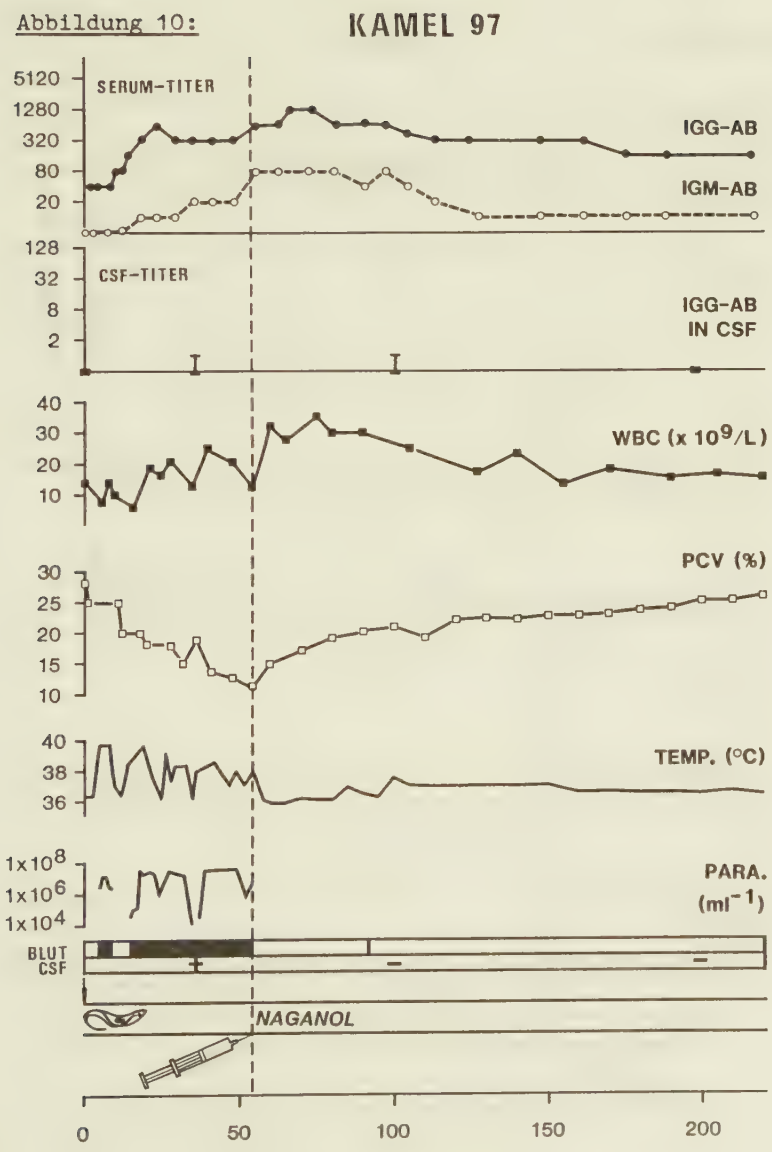


Abbildung 11:

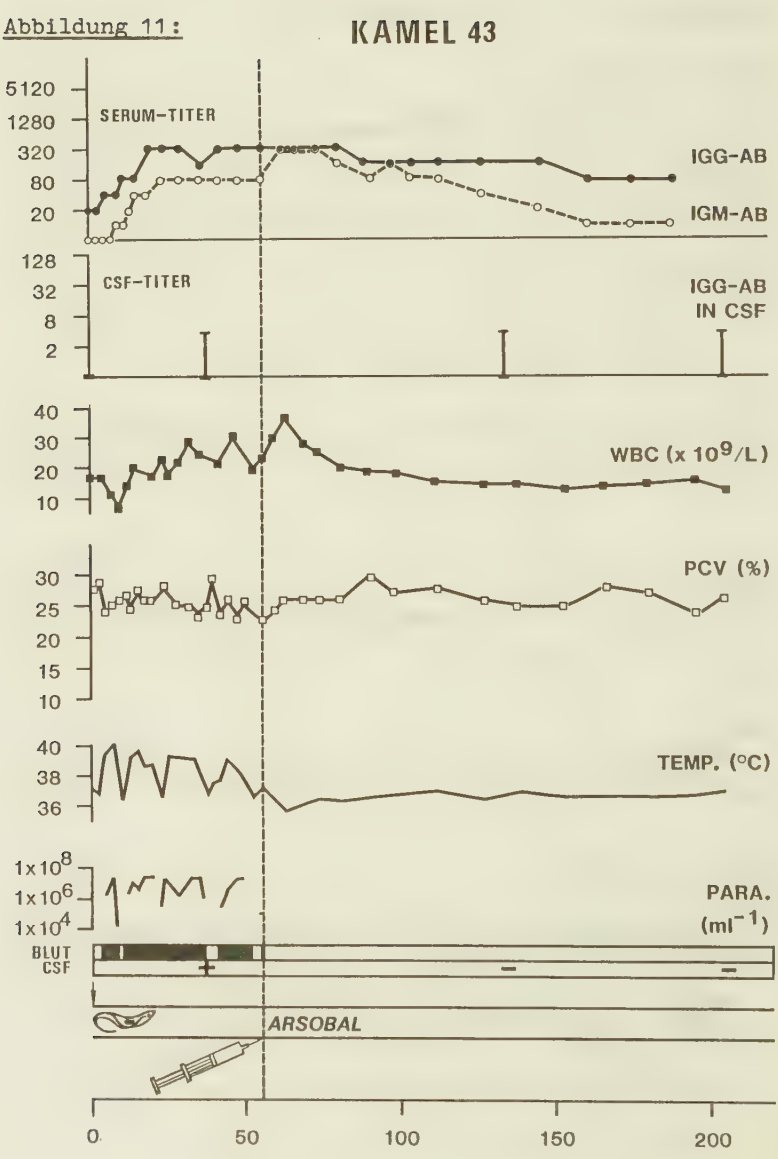


Abbildung 12:

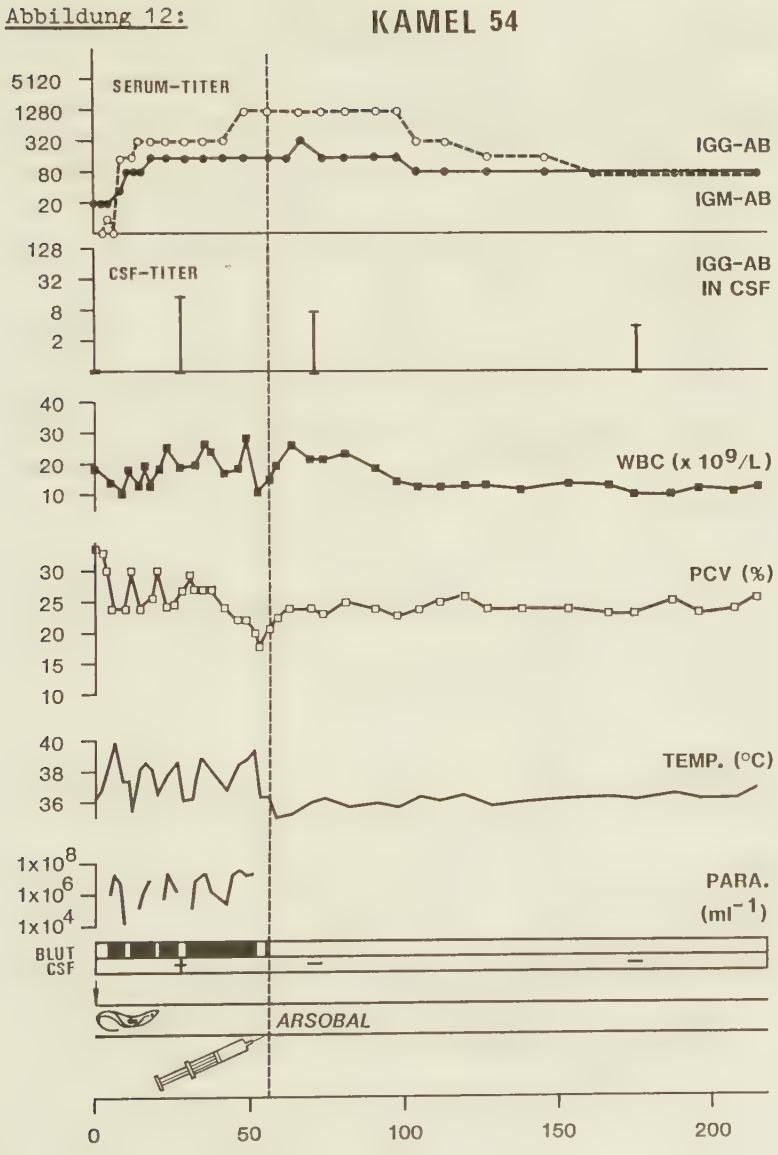


Abbildung 13:

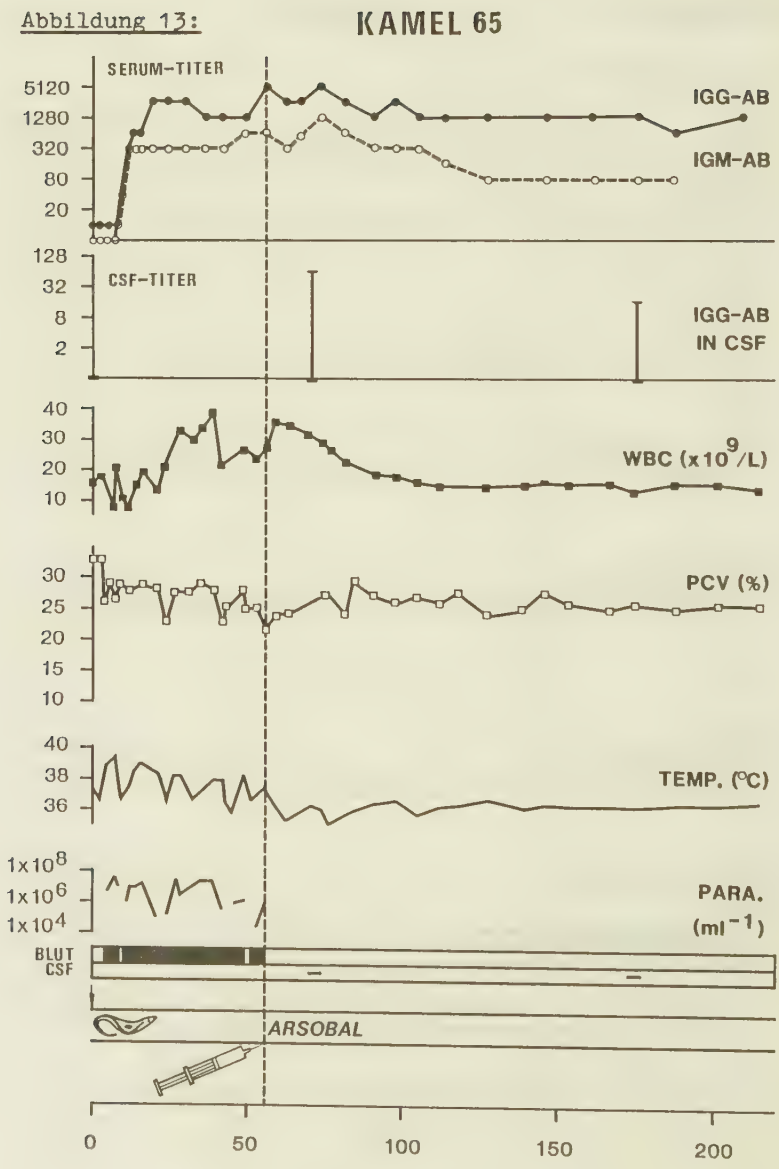


Abbildung 14:

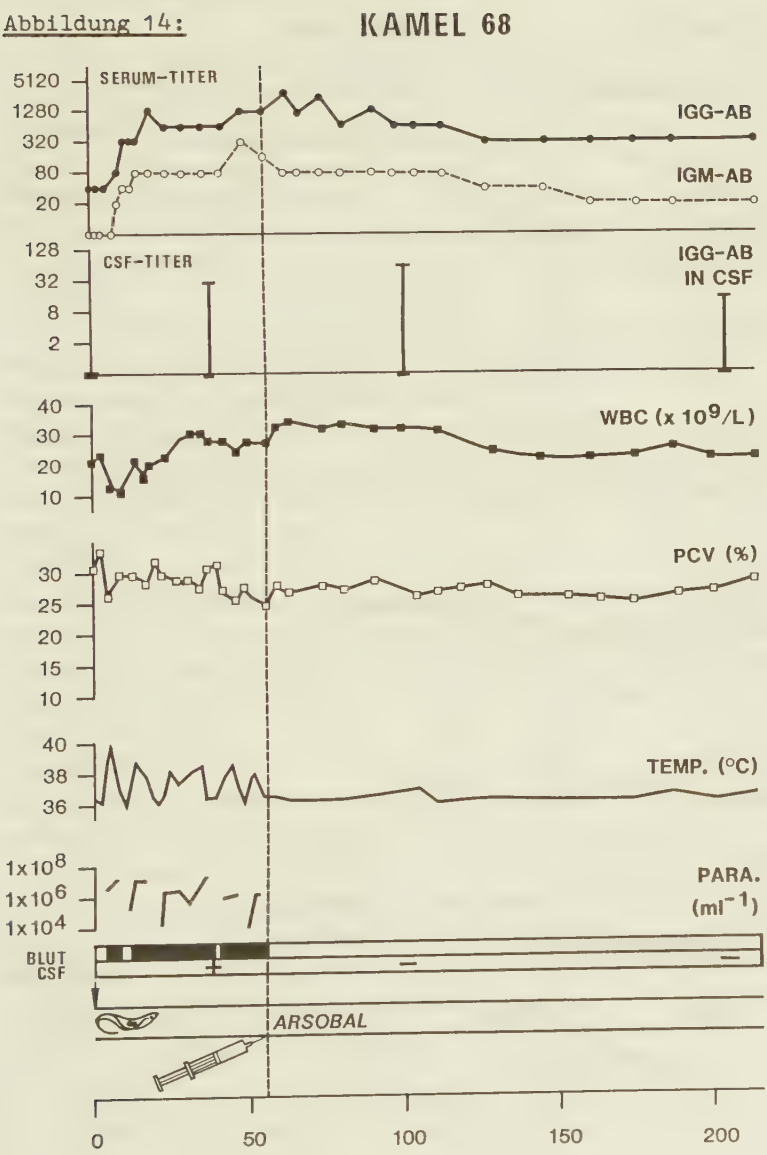
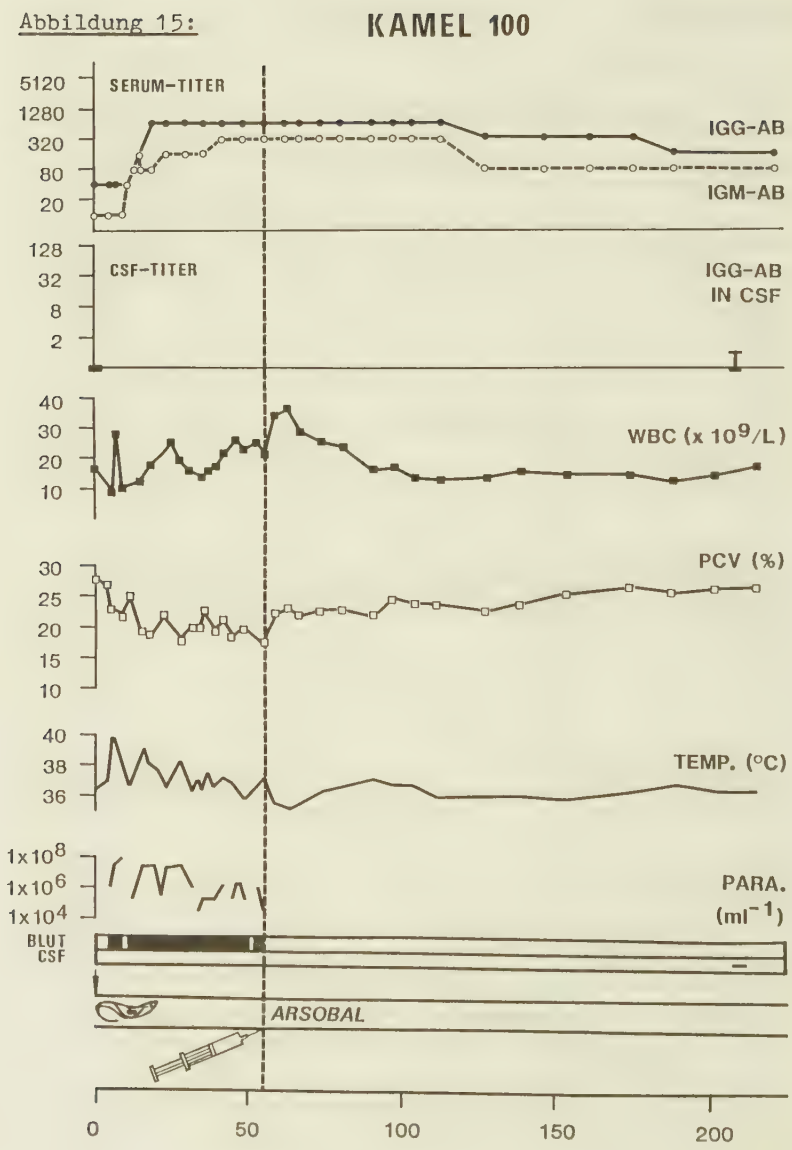


Abbildung 15:



3.2.4 Antikörperantwort im Serum

Mit der Mikro-ELISA-Technik konnten in den Kamelseren Antikörper der IgG- und IgM-Klasse gegen trypanosomales Extraktantigen dargestellt werden.

Erste Titeranstiege wurden im Allgemeinen 9-13 Tage nach der Infektion nachgewiesen. Nur Kamel 108 zeigte eine verspätete Antikörperantwort (30 Tage p.i.) (siehe Abbildung 16-21).

Die IgG-Antikörpertiter stiegen um 4-8 Stufen auf Maximaltiter von 1:320 bis 1:10240, die IgM-Antikörpertiter um 4-8 Stufen auf Maximalwerte von 1:80 bis 1:2560.
Bei den Tieren der positiven Kontrollgruppe kam es drei Monate p.i. zu einer Stabilisierung und Plateaubildung der Antikörpertiter beider Klassen über den gesamten Infektionszeitraum (siehe Abbildung 16 und 17).

Nach der Chemotherapie kam es zu einem Titerabfall.
Während der IgG-Antikörpertiter in 90 Tagen nach der Behandlung nur um eine Titerstufe abnahm, fiel der IgM-Antikörpertiter im gleichen Zeitraum um drei Titerstufen (siehe Abbildung 22 und 23).

Der kurzfristige Titeranstieg um 1 Stufe in der abfallenden IgM-Antikörpertiterkurve von Kamel 97 und Kamel 105 ist zeitlich deckungsgleich mit dem zu diesem Zeitpunkt, 42 Tage bzw. 68 Tage nach der Chemotherapie isolierten Relapse.
Zum Zeitpunkt des erneuten kurzfristigen Titeranstiegs in der abfallenden IgM-Antikörpertiterkurve von Kamel 108 konnte kein parasitologischer Nachweis geführt werden.

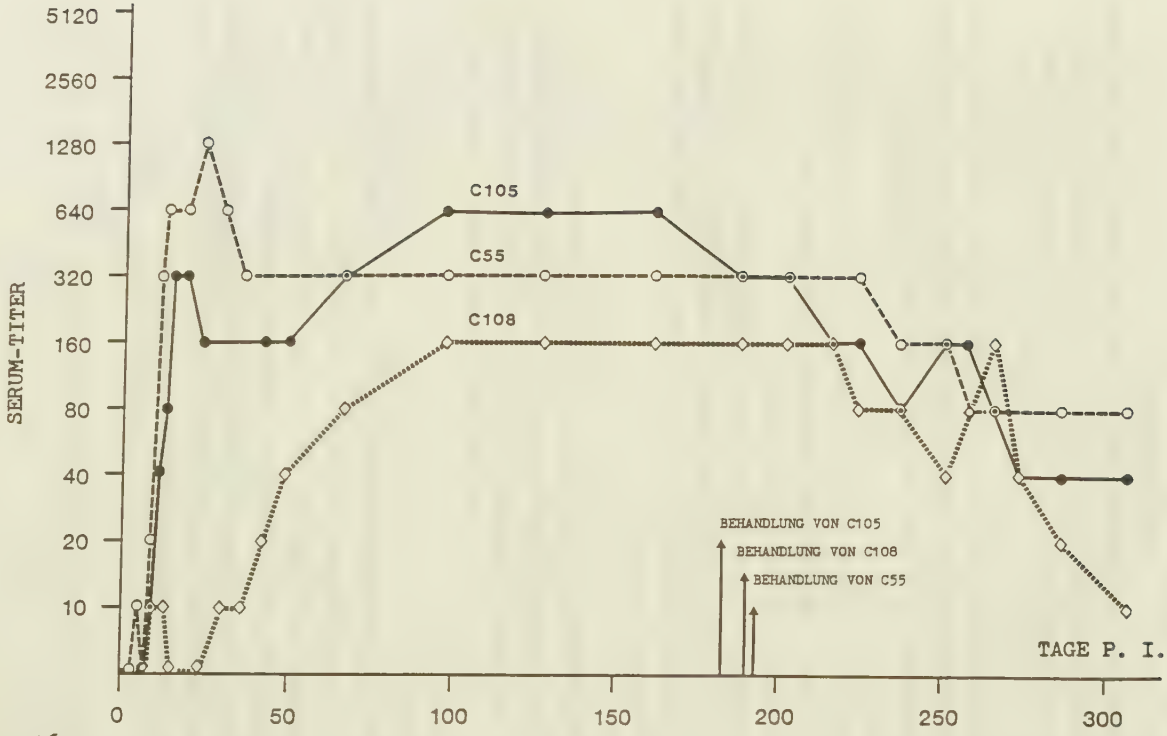


Abb. 16:
IgM-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und am Versuchsende mit Naganol-(6 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= positive Kontrollgruppe B)

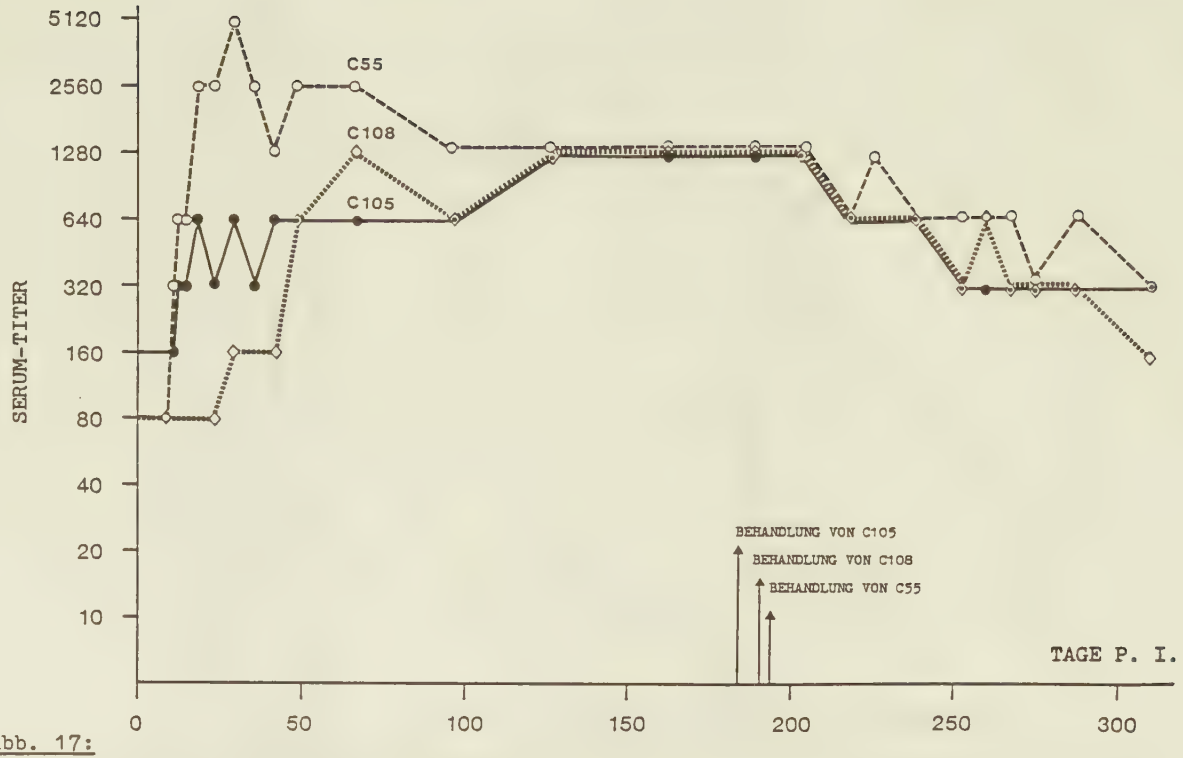


Abb. 17:
IgG-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und am Versuchsende mit Naganol-(6 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= positive Kontrollgruppe B)

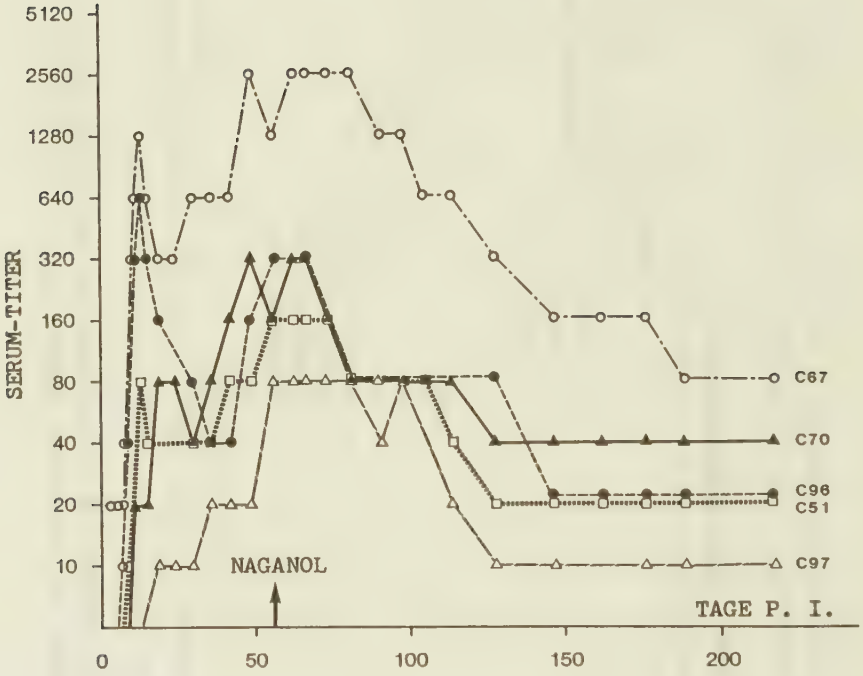


Abb. 18:
IgM-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten mit Naganol-(12 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= Gruppe C: C51; C67; C70; C96; C97)

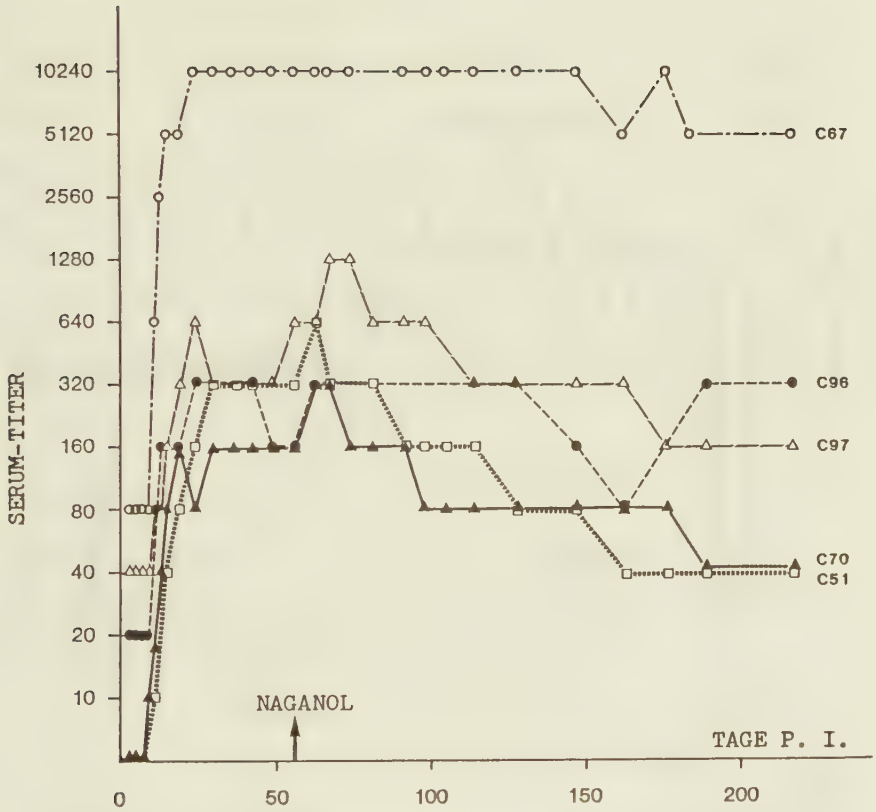


Abb. 19:
IgG-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten mit Naganol-(12 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= Gruppe C: C51; C67; C70; C96; C97)

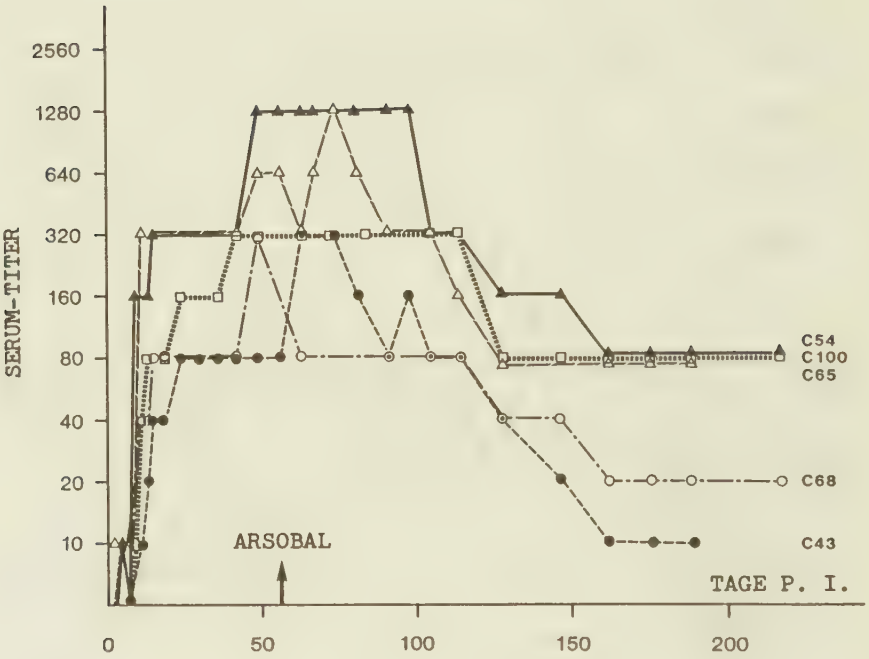


Abb. 20:
IgM-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten mit Arsobal-(3,5 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= Gruppe D: C43; C54; C65; C68; C100)

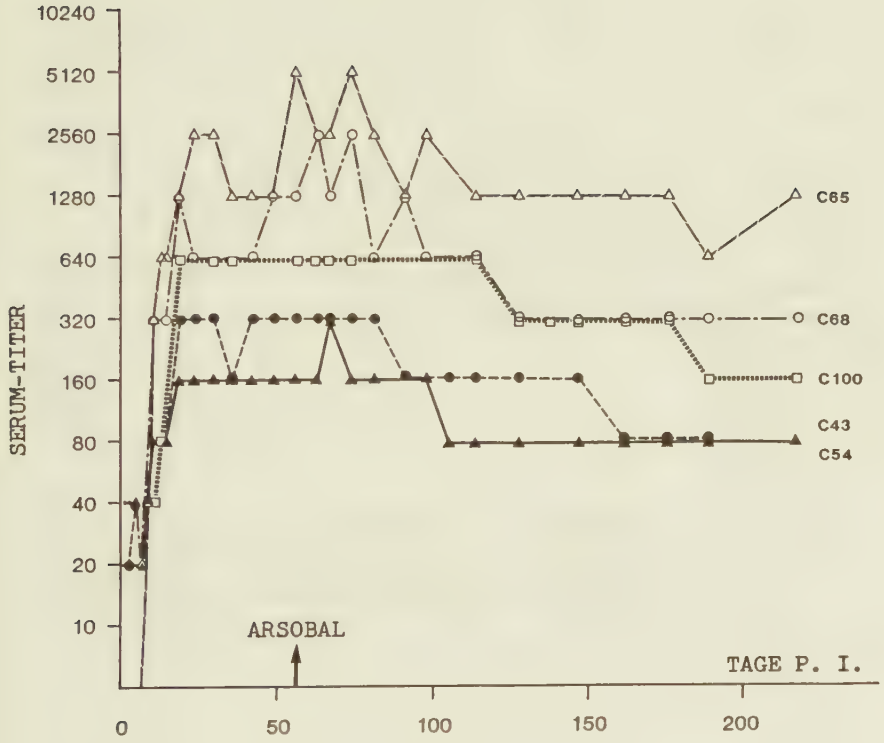


Abb. 21:
IgG-Antikörpertiter gegen Trypanosomenantigen im ELISA bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten mit Arsobal-(3,5 mg/kg KGW) behandelten Kamelen (= Gruppe D: C43; C54; C65; C68; C100)

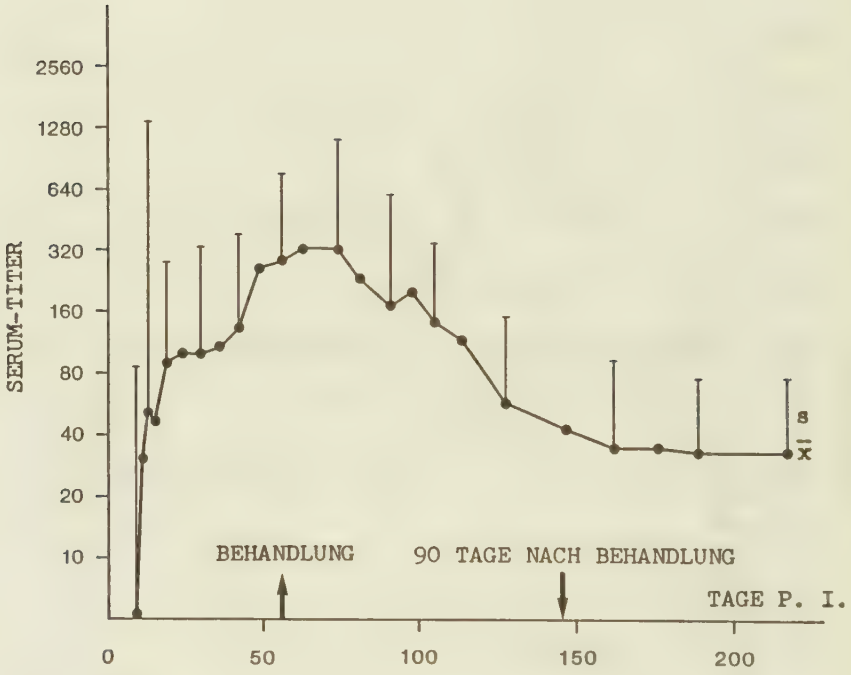


Abb. 22:
Arithmetisches Mittel ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) der IgM-Antikörpertiter (berechnet auf Basis der logarithmierten Daten) bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten behandelten Kamelen (Kamele der Gruppe C und D)

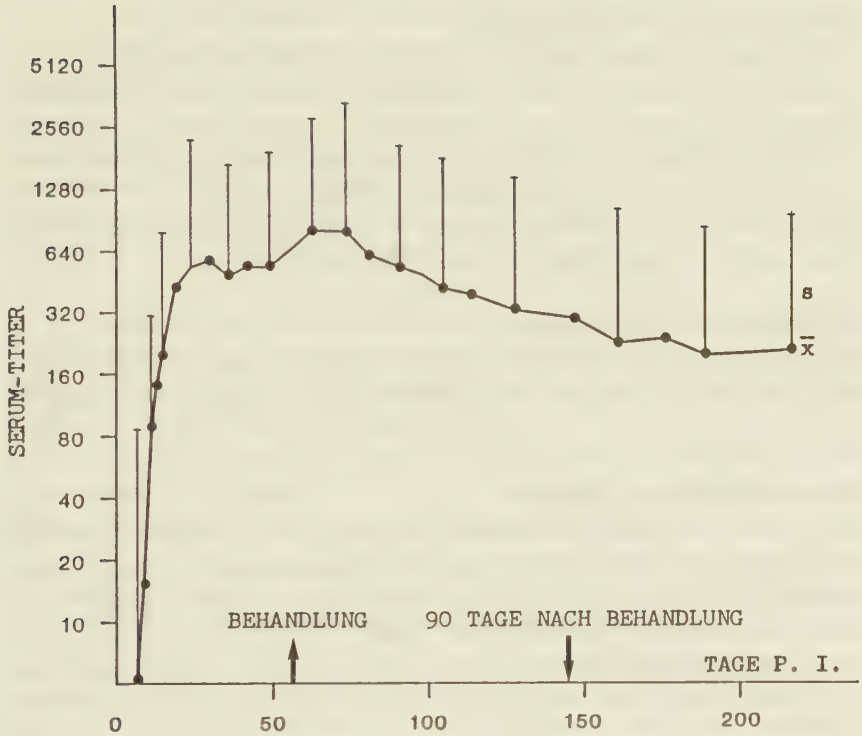


Abb. 23:
Arithmetisches Mittel ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) der IgG-Antikörpertiter (berechnet auf Basis der logarithmierten Daten) bei experimentell mit T. evansi-infizierten und nach zwei Monaten behandelten Kamelen (Kamele der Gruppe C und D)

3.2.5 Veränderungen im Liquor cerebrospinalis

Makroskopische Veränderungen:
Der Liquor cerebrospinalis war bei den infizierten und nicht-infizierten Kamelen klar, durchsichtig und farblos. Trübungen kamen nur in Fällen vor, in denen bei der Punktion Gefäße verletzt wurden. In diesen Fällen war aber nach dem Zentrifugieren der Überstand wasserhell (Tab. 2-16).
Sogenannte "Spinngewebsgerinnsel", Ausfällungen von Fibrin in Form feiner netzartiger Fädchen, traten nicht auf.

Physikalische Eigenschaften:
Der Liquor-pH-Wert bewegte sich im Bereich von 7,4 bis 7,55; das spezifische Gewicht von 1005 bis 1007 mg pro ml (Tab. 2-16).

Parasitologischer Nachweis:
Wie schon im parasitologischen Ergebnisteil erwähnt, konnten im Liquor cerebrospinalis vor der Chemotherapie durch Überimpfen von Liquor auf bestrahlte Mäuse 4, 5 und 24 Wochen p.i. Parasiten isoliert werden (Tab. 2-16).
Nach der Chemotherapie war im Liquor cerebrospinalis kein Parasitennachweis mehr möglich.

Zytologische Veränderungen:
Vor der Infektion konnten im Nativliquor mit der Neubauer-Zählkammer keine kernhaltigen Zellen dargestellt werden (<5/µl).
Während der Infektion kam es bei den punktierten Kamelen - mit Ausnahme der Tiere 70 und 97 - zu einer Erhöhung der Zellzahl auf 5-30 Zellen pro µl Liquor.
Nach der Chemotherapie fiel die Zellzahl nur langsam ab. Im Zytozentrifugat stellten sich die kernhaltigen Zellen in der Gram-Färbung als Lymphozyten dar (Tab. 2-16).

Biochemische Bestimmungen:
Mit der qualitativen Eiweißreaktion nach Pandy wurde bereits in den präinfektionellen Liquorproben leichte (+) bis starke (++) Trübung des Liquors cerebrospinalis in gesättigter, wäßriger Phenollösung beobachtet (Tab. 2-16).

Mit Ausnahme von Kamel 54 konnte während der Infektion keine Zunahme der Trübung festgestellt werden.
Beim Kamel 54 kam es in dem am 6. November 1984 entnommenen Punktat zu einer starken Trübung mit Niederschlag (+++).

In der quantitativen Eiweißbestimmung nach Lowry wurden in den präinfektionellen Liquorpunktaten Eiweißkonzentrationen von 40-82 mg pro 100 ml (dl) gemessen (Tab. 2-16). Eine deutliche Erhöhung in der Eiweißkonzentration zum Zeitpunkt der Infektion erfolgte nur in Kamel 54. In der Liquorprobe vom 6. November 1984 wurde ein Eiweißgehalt von 122 mg pro 100 ml Liquor erreicht.

Die Untersuchungen auf Glucose- und Harnstoffgehalte ergaben keine besonderen Veränderungen im Versuchszeitraum.

Immunologische Untersuchungen:
Nach der Infektion konnte mit der einfachen radialen Immundiffusion (MANCINI et al., 1965) eine qualitative Zunahme von Immunglobulin-G in den Liquorproben nachgewiesen werden (Tab. 2-16).

Eine quantitative Auswertung ist aufgrund einer fehlenden Definition der Immunglobulin-G-Subklassen zur Zeit noch nicht möglich. Im Mancini-Test bildeten sich zwei IgG-Präzipitationsringe.

Eine Darstellung von Immunglobulin-M im Liquor cerebrospinalis gelang weder vor noch nach der Infektion.

In der Mikro-ELISA konnte ein Nachweis von IgG-Antikörpern im Liquor geführt werden.
Die IgG-Antikörpertiter stiegen um 1-8 Stufen auf Maximalwerte von 1:2 bis 1:128 (Tab. 2-16).
Kamel 97 zeigte eine nur schwache Immunantwort (1:2), während Kamel 67 einen hohen IgG-Antikörpertiter (1:128) im Liquor aufwies.
Nach der Chemotherapie kam es nur zu einem langsamen Titerabfall.

Trypanosomen-spezifische Antikörper der IgM-Klasse konnten in der Liquor cerebrospinalis auch in der ELISA nicht dargestellt werden.

Legende zu den Tabellen 2-16 :

Liquorbefunde bei gesunden und Trypanosoma evansi-infizierten Kamelen.

Gruppe **A** : Negative Kontrollkamele
38, 93 (Tab.: 2 und 3)

Gruppe **B** : Positive Kontrollkamele
55, 105, 108 (Tab.: 4 bis 6)

Gruppe **C** : Kamele behandelt mit Naganol (56 Tage p.i.)
51, 67, 70, 96, 97 (Tab.: 7 bis 11)

Gruppe **D** : Kamele behandelt mit Arsobal (56 Tage p.i.)
43, 54, 65, 68, 100 (Tab.: 12 bis 16)

CSF — Cerebrospinalflüssigkeit

HCT — Hämatokrit-Zentrifugentechnik

IGG-AB — Trypanosomen-spezifische Antikörpertiter der IgG-Klasse

Tage p.i. — Tage nach der Infektion

* — Gefäßruptur infolge der Liquorpunktion

Pandy-Reakt.

\+ — Leichte Trübung
++ — Starke Trübung
+++ — Niederschlag

(Keine Trübung und ein ganz zartes eben sichtbares Wölkchen gelten in der Humandiagnostik als normaler Befund)

Tabelle 2: CSF-Proben von Kamel 38

	vor der Infektion	28. Tag		136. Tag
Farbe	farblos	rötlich		farblos
Transparenz	klar	trübe		klar
Ausfällungen	keine	keine		keine
pH-Wert	7,45	7,5		7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,005	1,006		1,006
HCT	-	-		-
Mäuseinokulation	-	-		-
Erythrozyten/µl	80*	1300*		580*
Kernhaltige Zellen/µl	<5	25		<5
Zelldifferenzierung				
Eiweiß (mg/100 ml)	50	53		59
Pandy-Reaktion	+	+		+
Glukose (mg/100 ml)	75	70		67
Harnstoff (mg/100 ml)	4	34		15
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm	3,0 mm		3,0 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,2 mm	5,2 mm		5,2 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64				
32				
16				
8				
4				
2				
	–	–		–

Tabelle 3: CSF-Proben von Kamel 93

	vor der Infektion	17. Tag		197. Tag
Farbe Transparenz Ausfällungen pH-Wert spez. Gewicht (g/ml)		farblos klar keine 7,4 1,006		farblos klar keine 7,4 1,006
HCT Mäuseinokulation		- -		- -
Erythrozyten/µl Kernhaltige Zellen/µl Zelldifferenzierung		500* <5		175* <5
Eiweiß (mg/100 ml) Pandy-Reaktion Glukose (mg/100 ml) Harnstoff (mg/100 ml)		82 ++ 71 10		81 ++ 75 30
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration: ø innerer- ø äußerer- Immundiffusionsring		 3,2 mm 5,2 mm		 3,2 mm 5,2 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2		–		–

Tabelle 4: CSF-Proben von Kamel 55

	vor der Infektion	28Tage p.i.	183Tage p.i.	265Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,4	7,5	7,45	7,45
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,006	1,006	1,007
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	keine	100*	keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5	5	10	15
Zelldifferenzierung		Lympho	Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	65	54	69	52
Pandy-Reaktion	++	+	++	+
Glukose (mg/100 ml)	75	70	75	77
Harnstoff (mg/100 ml)	26	38	37	43
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm	3,5 mm	4,0 mm	
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,5 mm	6,0 mm	7,5 mm	
IGG-AB (CSF-TITER)				

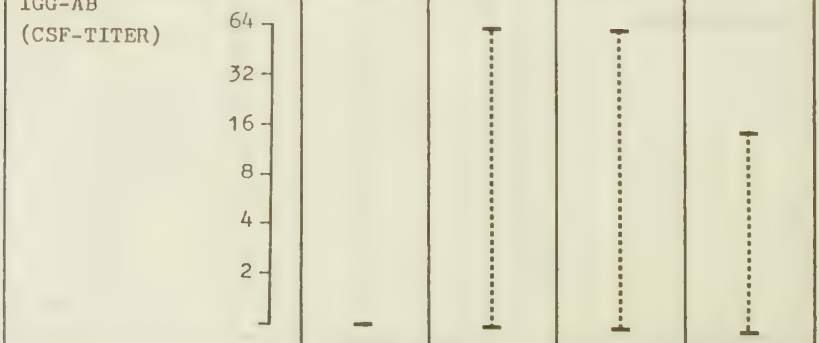


Tabelle 5: CSF-Proben von Kamel 105

	vor der Infektion	Tage p.i.	Tage p.i.	250 Tage p.i.
Farbe Transparenz Ausfällungen pH-Wert spez. Gewicht (g/ml)	farblos klar keine 7,4 1,006			farblos klar keine 7,4 1,006
HCT Mäuseinokulation	- -			- -
Erythrozyten/µl Kernhaltige Zellen/µl Zelldifferenzierung	140* <5			keine 5 Lympho
Eiweiß (mg/100 ml) Pandy-Reaktion Glukose (mg/100 ml) Harnstoff (mg/100 ml)	66 ++ 74 8			50 + 80 25
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration: ø innerer- ø äußerer- Immundiffusionsring	 3,8 mm 4,8 mm			 3,8 mm 4,8 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2	-			

Tabelle 6: CSF-Proben von Kamel 108

	vor der Infektion	35 Tage p.i.	136 Tage p.i.	170 Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,4	7,45	7,45	7,45
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,006	1,005	1,006
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	+
Erythrozyten/µl	60*	keine	keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5	15	10	25
Zelldifferenzierung		Lympho	Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	40	38	52	59
Pandy-Reaktion	+	+	+	+
Glukose (mg/100 ml)	75	74	72	70
Harnstoff (mg/100 ml)	15	22	20	28
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm	3,5 mm	4,0 mm	4,2 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	4,5 mm	5,0 mm	6,5 mm	6,7 mm
IGG-AB (CSF-TITER)				

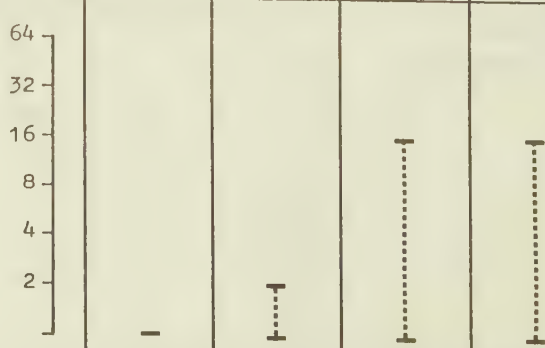


Tabelle 7: CSF-Proben von Kamel 51

	vor der Infektion	Tage p.i.	71 Tage p.i.	170Tage p.i.
Farbe	farblos		farblos	farblos
Transparenz	klar		klar	klar
Ausfällungen	keine		keine	keine
pH-Wert	7,4		7,4	7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,005		1,006	1,005
HCT	-		-	-
Mäuseinokulation	-		-	-
Erythrozyten/µl	keine		keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5		<5	20
Zelldifferenzierung				Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	56		60	
Pandy-Reaktion	+		+	
Glukose (mg/100 ml)	71		65	
Harnstoff (mg/100 ml)	22		10	
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,2 mm		3,8 mm	
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,0 mm		6,0 mm	
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2	–		┆	

Tabelle 8: CSF-Proben von Kamel 67

	vor der Infektion	Tage p.i.	Tage p.i.	209 Tage p.i.
Farbe Transparenz Ausfällungen pH-Wert spez. Gewicht (g/ml)	farblos klar keine 7,45 1,005			farblos klar keine 7,5 1,006
HCT Mäuseinokulation	- -			- -
Erythrozyten/µl Kernhaltige Zellen/µl Zelldifferenzierung	keine <5			keine 10 Lymph
Eiweiß (mg/100 ml) Pandy-Reaktion Glukose (mg/100 ml) Harnstoff (mg/100 ml)	66 ++ 87 16			85 ++ 74 25
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration: ø innerer- ø äußerer- Immundiffusionsring	 3,2 mm 5,0 mm			 4,0 mm 7,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 128 64 32 16 4 2	–			

Tabelle 9: CSF-Proben von Kamel 70

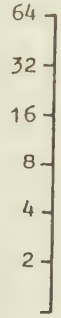
	vor der Infektion	28 Tage p.i.	71 Tage p.i.	170 Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,5	7,4	7,5	7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,005	1,005	1,005
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	keine	keine	keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5	<5	5	20
Zelldifferenzierung			Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	52	51	47	54
Pandy-Reaktion	+	+	+	+
Glukose (mg/100 ml)	70	77	66	70
Harnstoff (mg/100 ml)	15	15	10	27
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm	3,8 mm	3,5 mm	3,5 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,0 mm	5,2 mm	5,0 mm	5,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER)				

Tabelle 10: CSF-Proben von Kamel 96

	vor der Infektion	Tage p.i.	135 Tage p.i.	210 Tage p.i.
Farbe	farblos		farblos	farblos
Transparenz	klar		klar	klar
Ausfällungen	keine		keine	keine
pH-Wert	7,45		7,4	7,4
spez. Gewicht (g/ml)	1,007		1,006	1,005
HCT	-		-	-
Mäuseinokulation	-		-	-
Erythrozyten/µl	keine		keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5		<5	10
Zelldifferenzierung				Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	55		66	75
Pandy-Reaktion	+		++	++
Glukose (mg/100 ml)	65		71	65
Harnstoff (mg/100 ml)	22		20	16
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm		3,8 mm	3,8 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	4,5 mm		5,2 mm	5,5 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2	–		┆	┆

Tabelle 11: CSF-Proben von Kamel 97

	vor der Infektion	35 Tage p.i.	101 Tage p.i.	197 Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,5	7,45	7,5	7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,006	1,006	1,006
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	keine	keine	keine	125*
Kernhaltige Zellen/µl	<5	5	10	5
Zelldifferenzierung		Lymphp	Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	43	45	53	65
Pandy-Reaktion	+	+	+	++
Glukose (mg/100 ml)	65	60	84	70
Harnstoff (mg/100 ml)	22	15	15	28
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	2,5 mm	3,0 mm	3,5 mm	3,0 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	4,0 mm	5,2 mm	5,5 mm	5,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER)	–			–

Tabelle 12: CSF-Proben von Kamel 43

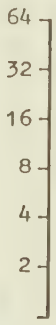
	vor der Infektion	38Tage p.i.	135Tage p.i.	205Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,5	7,5	7,4	7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,005	1,005	1,006
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	keine	keine	keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5	15	<5	10
Zelldifferenzierung		Lympho		Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	79	76	75	80
Pandy-Reaktion	++	++	++	++
Glukose (mg/100 ml)	70	90	68	80
Harnstoff (mg/100 ml)	20	10	16	30
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,5 mm	4,0 mm	3,5 mm	3,5 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,8 mm	6,2 mm	5,8 mm	5,6 mm
IGG-AB (CSF-TITER)				

Tabelle 13: CSF-Proben von Kamel 54

	vor der Infektion	28 Tage p.i.	71 Tage p.i.	175 Tage p.i.
Farbe	rötlich	farblos	farblos	farblos
Transparenz	trübe	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,4	7,55	7,5	7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,005	1,006	1,006
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	1090*	keine	keine	keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5	30	15	20
Zelldifferenzierung		Lympho	Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	75	86	122	76
Pandy-Reaktion	++	++	+++	++
Glukose (mg/100 ml)	67	70	64	80
Harnstoff (mg/100 ml)	17	12	15	33
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,5 mm	3,8 mm	4,5 mm	3,5 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,8 mm	6,0 mm	8,0 mm	6,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER)				

Tabelle 14: CSF-Proben von Kamel 65

	vor der Infektion	Tage p.i.	71 Tage p.i.	175 Tage p.i.
Farbe	farblos		farblos	farblos
Transparenz	klar		klar	klar
Ausfällungen	keine		keine	keine
pH-Wert	7,4		7,45	7,4
spez. Gewicht (g/ml)	1,006		1,006	1,006
HCT	-		-	-
Mäuseinokulation	-		-	-
Erythrozyten/µl	keine		keine	5
Kernhaltige Zellen/µl	<5		10	<5
Zelldifferenzierung			Lympho	
Eiweiß (mg/100 ml)	64		72	59
Pandy-Reaktion	+		++	+
Glukose (mg/100 ml)	76		75	73
Harnstoff (mg/100 ml)	10		17	26
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm		3,5 mm	3,2 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	4,8 mm		6,0 mm	5,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2	–			

Tabelle 15: CSF-Proben von Kamel 68

	vor der Infektion	38 Tage p.i.	101 Tage p.i.	205 Tage p.i.
Farbe	farblos	farblos	farblos	farblos
Transparenz	klar	klar	klar	klar
Ausfällungen	keine	keine	keine	keine
pH-Wert	7,5	7,45	7,5	7,4
spez. Gewicht (g/ml)	1,006	1,006	1,006	1,006
HCT	-	-	-	-
Mäuseinokulation	-	+	-	-
Erythrozyten/µl	10*	keine	25*	630*
Kernhaltige Zellen/µl	<5	10	10	15
Zelldifferenzierung		Lympho	Lympho	Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	78	76	91	83
Pandy-Reaktion	++	++	++	++
Glukose (mg/100 ml)	72	72	70	74
Harnstoff (mg/100 ml)	12	9	32	26
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm	3,8 mm	3,5 mm	3,5 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	6,0 mm	6,0 mm	6,0 mm	6,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER)				

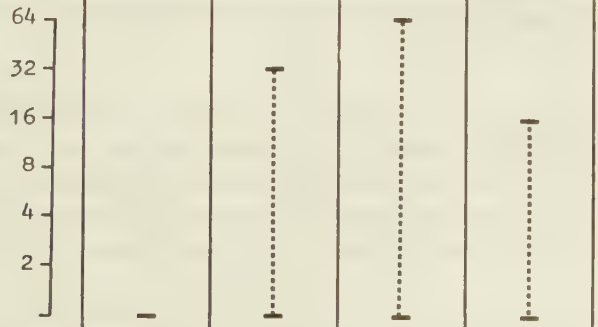


Tabelle 16: CSF-Proben von Kamel 100

	vor der Infektion	Tage p.i.	Tage p.i.	210 Tage p.i.
Farbe	farblos			farblos
Transparenz	klar			klar
Ausfällungen	keine			keine
pH-Wert	7,45			7,5
spez. Gewicht (g/ml)	1,005			1,006
HCT	-			-
Mäuseinokulation	-			-
Erythrozyten/µl	350*			keine
Kernhaltige Zellen/µl	<5			5
Zelldifferenzierung				Lympho
Eiweiß (mg/100 ml)	61			81
Pandy-Reaktion	+			++
Glukose (mg/100 ml)	75			70
Harnstoff (mg/100 ml)	21			25
Semiquantitative IgG-Liquorkonzentration:				
ø innerer-	3,0 mm			3,5 mm
ø äußerer- Immundiffusionsring	5,0 mm			6,0 mm
IGG-AB (CSF-TITER) 64 32 16 8 4 2	–			I

4 BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

4.1 Experimentelle Trypanosoma evansi-Infektion in Kamelen

Nach der Infektion mit T.evansi konnten bei einem Kamel am 3. Tag und bei 12 Kamelen am 4. Tag erstmals Trypanosomen im Blut nachgewiesen werden.

Während RAISINGHANI und LODHA (1980) eine Präpatenzzeit von nur 3 Tagen angeben, berichtet KNOWLES (1927a) von 7, 8 und 10 Tagen. Die unterschiedlichen Angaben über die Präpatenzzeit sind sicherlich von den verschiedensten Faktoren abhängig: der Virulenz des Trypanosomenstammes, der Infektionsdosis und dem Infektionsweg, dem Reaktionsvermögen des Wirtstieres und der Empfindlichkeit der parasitologischen Nachweistechnik.

Die Initialpeaks erreichten am 7. Tag nach der Infektion noch annähernd einheitliche Parasitämiehöhen von 2×10^7 bis 8×10^7 Trypanosomen pro ml Jugularvenenblut. Während bei 4 Kamelen die Parasitämiehöhe von den Folgepopulationen meist wieder erreicht wurde, kam es bei anderen Tiere zu einem Abfall in der Parasitämiedichte. Bei 5 weiteren Kamelen kam es zeitweise zur Ausprägung von plateauartig, persistierenden Parasitämien von über 10^7 Trypanosomen pro ml, die sich jedoch bei 2 Tieren nur auf den frühen Infektionszeitraum beschränkten. Zwei bis drei Monate nach der Infektion waren die Parasitämien insgesamt weniger stark ausgeprägt, so daß nach drei Monaten der Nachweis von Trypanosomen in der HCT nicht an allen Tagen möglich war. Die aparasitämischen Zeiträume betrugen wenige Tage bis Wochen.

Die Abnahme der Parasitämie in Höhe und Frequenz ihres Auftretens deckt sich mit den Beschreibungen von KNOWLES (1927a) und LEESE (1927) über chronisch infizierte Kamele und könnte mit einem begrenzten Repertoir an neuen Antigenvarianten (VATs), von HAMERS (1984) für T.evansi postuliert, erklärt werden.

Andererseits, vergleicht man den Parasitämieverlauf bei Kamelen und bei Ponys, könnten für die Begrenzung der Parasitämien im späteren Infektionsverlauf auch tierartspezifische Faktoren verantwortlich gemacht werden.

SCHÖNEFELD (1979) infizierte 8 Shetlandponys, ebenfalls mit 1000 Trypanosomen pro kg Körpergewicht (KGW), mit einem T.evansi-Isolat (Bali, Indonesien).
In seinen Untersuchungen konnte er mit der HCT die Trypanosomen von der Präpatenzzeit über den gesamten Infektionszeitraum täglich darstellen. Es zeigte sich, daß Plateauparasitämien von über 10^7 Trypanosomen pro ml mit einer Ausnahme irreversibel waren, d.h. sofern sie auftraten, bis zum Tode der Tiere anhielten. Während im allgemeinen die Erregerzahl über lange Zeiten nicht über 6×10^7 Trypanosomen pro ml hinausging, kam es kurz vor dem Exitus zu einer deutlichen Zunahme und in sechs Fällen am Todestag oder kurz zuvor zu 1×10^8 bis 3×10^8 Trypanosomen pro ml.
Eine anhaltend hohe bzw. schließlich ungehemmt steigende Parasitämie deutete SCHÖNEFELD als Erschöpfung des spezifischen wie auch unspezifischen Abwehrsystems. Es kam zum Exitus aller Ponys. Die Infektionsdauer betrug 25 bis zu 66 Tage.

Die Aussage, Kamele können eine T.evansi-Infektion besser begrenzen als z.B. Ponys, wäre jedoch nur dann zutreffend, wenn in beiden experimentellen Infektionen der gleich T.evansi-Stamm eingesetzt worden wäre.
Während in der vorliegenden Untersuchung ein Lokalstamm - isoliert aus einem Kamel im Norden Kenias - eingesetzt wurde, verwendete SCHÖNEFELD (1979) einen T.evansi-Stamm aus Bali, isoliert aus einem Kalb.
Nach BANCROFT und ASKONAS (1985) kann die Virulenz zwischen Trypanosomenstämmen und unter einzelnen Klonen, abgeleitet aus einem Trypanosomenstamm, variieren.

Nach der Chemotherapie konnten mit der HCT zu keinem Zeitpunkt bei den befallenen Kamelen Parasiten im Jugularvenenblut nachgewiesen werden. Nur durch Überimpfen auf bestrahlte Mäuse und nur in zwei Fällen ließen sich Trypanosomen am 42. Tag und am 68. Tag nach der Chemotherapie mit Naganol isolieren. Anschließende wöchentliche Inokulationen blieben negativ.

Ähnliche Beobachtungen machte KNOWLES (1927a,b) im Sudan. Er behandelte zwei natürlich mit T.soudanense (= T.evansi) infizierte Kamele mit 6 und 8 g Naganol. Im ersten Kamel kam es nach 79 Tagen zu einem Relapse, der in einem zweiten Behandlungsversuch mit 10 g Naganol erfolgreich therapiert werden konnte. Im zweiten Kamel manifestierte sich am 53. Tag nach der Chemotherapie eine neue Parasitämie. Auch nach einer zweiten Behandlung mit 10 g Naganol kam es 46 Tage später zu einem erneuten Relapse. Erst ein dritter Behandlungsversuch - wieder mit 10 g Naganol - führte zur erfolgreichen Therapie.

Eine Reinfektion kann aufgrund der fliegensicheren Aufstallung meiner Versuchstiere ausgeschlossen werden. Eine Trypanozidresistenz scheidet durch die Auswahl eines Naganol-empfindlichen Trypanosomenstammes aus. Die Trypanosomenpopulation der positiven Kontrolltiere erwies sich auch noch zum Zeitpunkt der Therapie - 6 Monat p.i. - als Naganol-empfindlich.

Durch Überimpfen von Cerebrospinalflüssigkeit auf bestrahlte Mäuse konnten in dieser vor der Chemotherapie Trypanosomen nachgewiesen werden.
Die Diskussion dieser Befunde als Erklärung für einen Relapse soll in einem späteren Abschnitt gesondert geschehen.

Das klinische Bild der experimentellen T.evansi-Infektionen deckte sich mit den Beschreibungen von KNOWLES (1927a,b,), RUTTER (1967) und HIGGINS (1983) über subakut bis chronisch erkrankte Kamele.

War die Klinik im ersten Drittel der sechsmonatigen Infektionsperiode der positiven Kontrolltiere durch einen mehr subakuten Verlauf gekennzeichnet, so entsprach der spätere Verlauf dem klinischen Bild von chronisch erkrankten Kamelen. Ungenügendes Futterangebot, lange Tränkeintervalle, harte Arbeit oder Belastungen durch Endo- oder Ektoparasiten, hätten sicher zur Überleitung in eine akute Verlaufsform geführt.

Während die ersten Parasitämiepeaks noch mit Rektaltemperaturen um 40°C einhergingen, wurden im letzten Drittel der Infektionsperiode zu Zeiten neuer parasitämischer Gipfel Temperaturen von 38°C nur noch selten überschritten. Zu Zeiten geringerer Parasitämien ist eine weniger ausgeprägter Temperaturgipfel zu erwarten, da der Temperaturanstieg als Ausdruck der durch die Immunantwort bedingte Trypanolyse verstanden wird.

Zur Ausbildung distaler Oedeme kam es insbesondere bei den Kamelen, die hohe und plateauartig, persistierende Parasitämien aufwiesen.
Die Bereitschaft zur Oedembildung könnte durch einen Abfall in der Albuminkonzentration, wie er in Trypanosoma evansi-Infektionen beobachtet wurde, erklärt werden. BOID et al. (1980) und JATKAR et al. (1973) konnten in chronisch infizierten Kamelen einen Rückgang der Albuminkonzentration darstellen.
Die Höhe der Gamma-Globulinkonzentration soll sich auf den Albuminspiegel auswirken.

Eine Abklärung dieser Beziehung wäre durch eine Bestimmung der Albuminkonzentration in den Serumproben über den Versuchszeitraum möglich.

Neben metabolischen Einflüssen werden aber auch zytotoxische Gefäßwandschädigungen durch sogenannte Autokoide für die Ausbildung von Oedemen verantwortlich gemacht (BOREHAM, 1985).

Unterstützend für die Ausbildung von Oedemen wirkte sicher aber auch die bewegungsarme Aufstallung der Versuchstiere über den Versuchszeitraum.

Motorische Störungen, wie sie von SCHÖNEFELD (1979) in der letzten Phase der experimentellen T.evansi-Infektion bei Ponys beschrieben werden, konnten nicht beobachtet werden.
Ein Nachweis von Trypanosomen im Liquor muß jedoch nicht mit entsprechenden zentralnervösen Störungen einhergehen (KRANEVELD und DJAENOEDIN, 1949).

Als Folge der Infektion kam es zu starken Veränderungen im roten und weißen Blutbild.

Die präinfektionellen Parameter des roten Blutbildes (PCV; RBC; Hb) deckten sich mit den in der Literatur für das Camelus dromedarius wiedergegebenen Werten.

Nach der Infektion erfolgte eine Abnahme des gepackten Zellvolumens (PCV). Während hohe Plateauparasitämien bei 5 Kamelen im ersten Drittel der Infektionsperiode zu einem starken PCV-Abfall führten, kam es in den Kamelen mit besserer Parasitämiebegrenzung nur zu einem geringeren PCV-Abfall.
Bei 2 Kamelen mit besserer Parasitämiebegrenzung kam es im letzten Drittel der Infektion sogar zu einer geringgradigen Erholung bzw. zu einem deutlichen Wiederanstieg des gepackten Zellvolumens.

Den Zusammenhang zwischen einer besseren Parasitämiebegrenzung und einem geringeren PCV-Abfall stellten auch MURRAY et al. (1977) im Vergleich T.brucei- und T.congolense-infizierter N'Dama- und Zeburinder für N'Dama-Rinder fest.

Die Ätiologie der Anämie der afrikanischen Trypanosomiasis ist multifaktoriell und führt zur Hämolyse der Erythrozyten (JENKINS und FACER, 1985).
Die Mechanismen, die in der initialen parasitämischen Phase für die Hämolyse verantwortlich sind, beruhen auf der Gegenwart von Parasiten. Eine trypanozide Therapie in dieser Phase führt daher zu einer deutlichen Erholung, wie sie auch bei meinen experimentellen Untersuchungen beobachtet werden konnte.
Obgleich keine Trypanosomen mehr nachgewiesen werden, kann sich im späten Stadium der Erkrankung die Lysis fortsetzen und es ergeben sich Hinweise für eine progressive Dyserythropoese. Sich in dieser Phase der Erkrankung befindende Rinder reagierten nicht auf eine Chemotherapie (MURRAY et al., 1980).

Die in Kamel 97 verzögerte Erholung des roten Blutbildes sollte jedoch im Zusammenhang mit dem am 42. Tag nach der Chemotherapie beobachteten Relapse gesehen werden.

Die Leukozytenkinetik war gekennzeichnet durch eine frühe Leukopenie mit anschließender Leukozytose, die sich insbesondere in den Tieren der positiven Kontrollgruppe über den gesamten Infektionszeitraum stabilisierte.

Die Leukopenie ist ein charakteristisches Merkmal der afrikanischen Trypanosomiasis, die ursächlich auf einen erhöhten peripheren Verbrauch, Leukophagozytose und durch die erhöhte Erythropoese auf Kosten der Leukozytopoese beruht (MACKENZIE und CRUICKSHAND, 1973).
ANOSA und ISOUN (1980) infizierten Ziegen und Schafe mit T.vivax. Auf eine frühe Leukopenie in der klinisch kritischen Phase der Erkrankung folgte bei den Tieren, die überlebten, eine Leukozytose. Ähnliche Beobachtungen machte LABOHM (1982) in T.congolense-Infektionen bei verschiedenen Rinderrassen in Togo. Einer nur schwach ausgeprägten frühen Leukopenie folgte bei den überlebenden Kälbern, vor allem bei den N'Damas, ab

der 3. Woche nach der Infektion eine durch Lymphozytose bedingte Leukozytose. Die mehr trypanosomenresistenten Tiere zeigten eine Überlegenheit in der Proliferationsantwort der weißen Blutzellen im Vergleich mit den empfindlicheren.

Nach der experimentellen Infektion konnten im Serum der Kamele ausgeprägte Antikörpertiter der IgG- und IgM-Klasse nachgewiesen werden.

Die Antikörpertiterverläufe der IgG-Klasse sind vergleichbar mit den Ergebnissen von LUCKINS et al. (1979) für experimentell mit Trypanosoma evansi-infizierte Kamele. Es bestätigte sich die lange Persistenz von Antikörpern der IgG-Klasse nach erfolgter Chemotherapie (ZWART et al., 1973; MEHLITZ , 1975; LUCKINS et al., 1979; BOID et al., 1981).

Ob die lange Persistenz als Ausdruck für die Halbwertszeit von IgG-Kamel zu werten ist, oder ob andere Einflüsse verantwortlich zu machen sind, ist nicht bekannt. In der Literatur finden sich weder Angaben zur Halbwertszeit von IgG-Kamel noch Erklärungen über die auch bei anderen Tierarten beschriebene IgG-Antikörperpersistenz nach trypanozider Chemotherapie.

Von NIELSEN et al. (1978a,b) wird von einem Hyperkatabolismus aller Immunglobulinklassen im Verlaufe einer experimentellen T.congolense-Infektion bei Rindern berichtet. Die Halbwertszeiten verringerten sich für IgG_1 von 14,92 - 17,67 auf 1,23 - 2,83 Tage; für IgG_2 von 22,46 - 23,45 auf 1,33 - 2,24 Tage und für IgM von 3,92 - 6,45 auf 0,58 - 1,21 Tage. Ob es nach der Chemotherapie zu einer verringerten Katabolisierung der Immunglobuline kommt ist nicht erwiesen.

Der rasche IgM-Titerabfall nach trypanozider Therapie läßt für IgM-Kamel, wie für andere Tierarten bekannt, eine kürzere Halbwertszeit als für IgG-Kamel erwarten.

Für Kamel 108 konnten erst 30 Tage p.i. Titeranstiege für Antikörper beider Immunglobulinklassen nachgewiesen werden. An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, daß im ELISA nur Trypanosomenextraktantigen verwendet wird, das fast ausschließlich aus somatischem, mit jeder neuen Population wiederkehrendem Antigen besteht. Es werden nur gegen diese Determinanten gerichtete Antikörper nachgewiesen. Somit können Antikörper gegen die vielfältigen variantenspezifischen Oberflächenantigene (= VSA-spezifische Immunantwort) mit dieser Methodik nicht erfaßt werden.
Für Kamel 108 weist aber die gute Begrenzung der ersten Trypanosomenpopulation auf eine VSA-spezifische Immunantwort hin. Ob der geringe IgM-Titeranstieg wenige Tage nach der Infektion auf Antikörper gegen somatisches Antigen der ersten Population zurückzuführen ist, bleibt ungewiß.
Wenn es aber im weiteren Verlauf zu einem verspäteten Titeranstieg beider Immunglobulinklassen kam, so ist hier ein Zusammenhang mit der schlechten Begrenzung der zweiten Population (Plateauparasitämie) zu sehen. Erst nachdem auch die zweite Population von der VSA-spezifischen Immunantwort lysiert war, kam es zur Freisetzung von somatischem Antigen und zur Antikörperbildung und damit zum Titeranstieg beider Immunglobulinklassen in der ELISA am 30. Tag p.i.

Im Liquor cerebrospinalis kam es nach der parasitologischen Besiedlung zu zytologischen, biochemischen und serologischen Veränderungen.

Die zytologische Reaktion auf die Invasion war im Vergleich zu Berichten beim Mensch (ZSCHUCKE, 1932) wenig stark ausgeprägt. In den nichtinfizierten Kamelen konnten in den Liquorpunktaten keine kernhaltigen Zellen dargestellt werden. Nach der Infektion kam es - mit Ausnahme von 2 Kamelen - zu einer Zellzahlerhöhung auf 5-30 Zellen pro µl Liquor.
SOLIMAN et al. (1966) untersuchten den Liquor cerebrospinalis von 200 Kamelen kurz vor ihrer Schlachtung auf einem Schlacht-

hof in Kairo. Für die 120 männlichen Kamele geben sie Zellzahlen von 0-30 und für die 80 weiblichen Tiere Zellzahlen von 5-30 pro µl Liquor an.
Obwohl von ihnen nur klinisch gesunde Tiere in die Untersuchung aufgenommen wurden, könnten klinisch nicht apparente Trypanosoma evansi-infizierte Tiere für die hohen Zellzahlen (30) verantwortlich gemacht werden. Für gesunde Rinder werden 0-25 Zellen pro µl Liquor angegeben (ROSENBERGER, 1977). Nach COLES (1980) gelten in der Veterinärmedizin allgemein weniger als 5 Leukozyten pro µl als normaler Liquorbefund.

Nach der Chemotherapie fiel die Zellzahl nur langsam ab, so daß insgesamt der prognostische Wert der Zytodiagnostik in dieser Untersuchung von nur geringem Wert war.

Gleiches gilt für die Eiweißkonzentration.
In den präinfektionellen Liquorproben wurden deutlich höhere Eiweißkonzentrationen gemessen, als z.B. für gesunde Rinder bekannt (10-40 mg/100 ml; ROSENBERGER, 1977) und von SOLIMAN et al. (1966) für Kamele beschrieben werden (20-42 mg/100 ml). Die in den präinfektionellen Punktaten beobachtete positive Pandy-Reaktion verwundert daher nicht.
Nach der Infektion kam es nur in Kamel 54 zu einer deutlichen Erhöhung in der Eiweißkonzentration.

Eine bessere Aussage lieferte die Serologie.
Nach der Infektion konnte im MANCINI-Test durch eine Zunahme der Immundiffusionsringe ein Anstieg von Immunglobulin-G nachgewiesen werden. Eine quantitative Auswertung konnte aufgrund der fehlenden IgG-Subklassencharakterisierung noch nicht geleistet werden.

Kamel-IgG bindet sich jedoch an Protein A-Sepharose CL-4B und läßt sich diskontinuierlich, pH-Wert-abhängig, eluieren, so daß eine ähnliche Subklassenfraktionierung möglich erscheint,

wie sie für Maus-IgG (SEPPÄLÄ et al., 1981) beschrieben ist (eigene, unveröffentlichte Untersuchung).

Wenn in den präinfektionellen Liquorproben im Mancini-Test kein IgM darzustellen war, so besteht hier Übereinstimmung mit FINK et al. (1983). Sie konnten ebenfalls in den Liquorpunktaten nicht mit Trypanosomen infizierter Affen in Immundiffusionsplatten kein IgM nachweisen.

Der normale Liquor ist im Vergleich zum Serum eine sehr eiweißarme Körperflüssigkeit und das Verteilungsmuster der verschiedenen Proteine gleicht keineswegs demjenigen im Serum. Von DELANK (1975) werden für IgM-Konzentrationen im Liquor gesunder Patienten nur "Spuren" angegeben.

Auffällig ist jedoch, daß in den Liquorpunktaten der infizierten Kamele kein IgM nachgewiesen werden konnte.
Gerade die Erhöhung des IgM-Spiegels im Liquor cerebrospinalis ist jedoch ein Hinweis für eine zentrale Besiedlung bei Patienten, die an der Schlafkrankheit leiden (MATTERN, 1964; 1968).

Bei T.rhodesiense-infizierten Affen konnten FINK et al. (1983) ebenfalls in den Liquorproben IgM nachweisen. Eine Besiedlung des Liquors mit Trypanosomen war jedoch nicht in jedem Fall mit einer Erhöhung des IgM-Spiegels verbunden.

In dem ELISA konnten in den Liquorproben der infizierten Kamele trypanosomen-spezfische Antikörper der IgG-Klasse, nicht aber der IgM-Klasse nachgewiesen werden.

Während ein parasitologischer Nachweis immer auch mit einem Nachweis von trypanosomen-spezifischen Antikörpern verbunden war, ging umgekehrt ein Antikörpernachweis nicht in jedem Fall auch mit einem Trypanosomennachweis einher. Diese Befunde las-

sen sich mit der niedrigen Parasitämie und der langen Persistenz der Antikörper der IgG-Klasse im Liquor erklären.

Fraglich bleibt, ob die Antikörper in situ produziert wurden, d.h. im Liquor selbt oder aus dem Serum stammen.
Nach DELANK (1975) ist bei jeder Erhöhung der Serum-IgG-Konzentration und bei jeder Störung der Schrankenpermeabilität mit einer relativen Erhöhung der Liquor-IgG-Konzentration zu rechnen.

Zur Erfassung der intracerebralen IgG-Synthese wird in der neuroimmunologischen Diagnostik der IgG-Index bestimmt:

$$\frac{\text{Liquor-IgG}}{\text{Serum-IgG}} : \frac{\text{Liquor-Albumin}}{\text{Serum-Albumin}}$$

Ein deutlicher Anstieg dieses Quotienten beweist, daß sich die Liquor-IgG-Erhöhung unabhängig vom Serum-IgG-Gehalt entwickelt hat und ebenfalls nicht durch eine gesteigerte Schrankenpermeabilität bedingt ist (DELANK, 1975; TIBBLING et al., 1977).

Weitere Informationen über die Liquorverhältnisse würde eine Untersuchung auf die variantenspezifische Immunantwort im Liquor und im Serum erlauben, wie sie von MASAKE et al. (1984) in T.congolense- und T.brucei-infizierten Rindern durchgeführt wurde. Sie konnten weder eine zeitliche noch quantitative Korrelation zwischen VSA-spezifischen Antikörpern im Serum und Liquor erkennen, was auf eine Produktion von trypanosomen-spezifischen Antikörpern im Liquor cerebrospinalis schließen läßt.

4.2 Besiedlung extravaskulärer Räume, Chemotherapie und Relapse

In dem Liquor cerebrospinalis konnten 4, 5 und 24 Wochen nach der experimentellen Infektion Trypanosomen nachgewiesen werden.

Damit fand die Vermutung von KNOWLES (1927a) über die extravaskuläre Besiedlung und die Beobachtung von RÖTTCHER und Mitarbeiter (1984, pers. Mitteilung) über eine Besiedlung der Cerebrospinalflüssigkeit von Trypanosoma evansi in Kamelen ihre Bestätigung in einer experimentellen Untersuchung.

Die Besiedlung des Liquors durch T.evansi in anderen Tierarten (HÖRCHNER et al., 1983; 1984) ist beschrieben.
Wenn in einigen Fällen auch von höheren Parasitämien im Liquor berichtet wird, als in diesen Untersuchungen, so ist diese Beobachtung sicher mit auf die Virulenz des Erregers zurückzuführen. MORRISON et al. (1985) beschreiben Serodeme von T.brucei, die stärker als andere für die Ausbildung einer Meningoencephalitis in Rindern prädisponiert waren.

Nach der Chemotherapie war durch die Untersuchung des Liquors und anderer extravaskulärer Körperflüssigkeiten kein Parasitennachweis möglich, und doch konnte in zwei Fällen eine neue, wenn auch kurzfristige Manifestierung der Parasitämie (Relapse) im Jugularvenenblut durch Mäuseinokulation dargestellt werden.
In beiden Fällen handelte es sich um Tiere, die zuvor mit Naganol behandelt worden waren. Kamel 105 jedoch nur mit der halben, für den Hauptversuch angesetzten Dosierung. Die zum Zeitpunkt der Therapie von Kamel 105 gegenwärtige Trypanosomenpopulation erwies sich jedoch auch gegenüber dieser Dosierung im Mäuse-Sensitivitätstest als voll empfindlich, so daß für den Relapse andere Gründe als Trypanozidresistenz verantwortlich zu machen sind.

Es wird vermutet, daß sich die Trypanosomen durch extravaskuläre Besiedlung der trypanoziden Wirkung von Naganol entziehen konnten und erst ein Abklingen der Konzentration an Naganol im peripheren Kreislauf einen Relapse möglich machte.
Inwieweit Antikörper der VSA-spezifischen Immunantwort einen Relapse zu einem früheren Zeitpunkt verhinderten, ist nicht nachweisbar.

Ebenso bleiben Antworten auf die schnelle Eliminierung der neuen Parasitämien spekulativ, solange nicht mehr Informationen über die Pharmakokinetik von Naganol und Untersuchungsergebnisse über die VSA-spezifische Immunantwort vorliegen.
So widersprüchlich eine Selbstheilung nach den heutigen Kenntnissen über die Antigenvarianz auch erscheinen mag, so wird von dem Phänomen der Selbstheilung doch in der Literatur berichtet (SANDER und HENNIG, 1906; ROELANTS und PINDER, 1984). Es mehren sich Hinweise, daß neben der spezifischen Immunantwort noch andere Mechanismen im infizierten Wirt für die Begrenzung der Parasitämie von Bedeutung sind.

Nach der Therapie mit Arsobal kam es in keinem Tier zu einem Relapse. Auch wurde Arsobal in der eingesetzten Dosierung, mit Ausnahme der Symptome, die der Behandlung unmittelbar folgten, von den Kamelen ohne auffällige toxische Erscheinungen im klinischen Bild toleriert.
Bevor jedoch Dosisempfehlungen gemacht werden können, sollten Toxizitätsuntersuchungen in Kamelen durchgeführt werden.

Vor Einsatz der Trypanozide Naganol und Arsobal bei laktierenden Kamelen und Kamelen, die zur Schlachtung anstehen, muß die mögliche Gefährdung der Konsumenten durch Trypanozidrückstände durch pharmakokinetische Untersuchungen abgeklärt werden.

Da es sich bei Melarsoprol (Arsobal^{R}) um eine organische Arsenverbindung handelt, wird eine schnelle Ausscheidung erwartet (MEYER und GOTTLIEB, 1933).

Solange jedoch biologische Halbwertszeiten für diese Trypanozide nicht bekannt sind, erscheint ihr Einsatz in den oben angeführten Tiergruppen als bedenklich.

4.3 Serodiagnose über den Verlauf trypanosomen-spezifischer Antikörper

Mit Ausnahme eines Kamels konnten 9-13 Tage nach der Infektion und über den gesamten Infektionszeitraum trypanosomen-spezifische Antikörper der Immunglobulinklasse G und M nachgewiesen werden.

Bei Tieren, die eine frühe Plateauparasitämie ausbilden, ist zu erwarten, daß sie aufgrund des akuten Krankheitsbildes von den Kamelhirten erkannt werden. Zudem ist in der akuten Phase der Erkrankung ein parasitologischer Nachweis in der Hämatokrit-Zentrifugentechnik (HCT) fast täglich möglich.

Nach der trypanoziden Chemotherapie kam es in den Seren innerhalb 90 Tagen zu einem IgM-Antikörperabfall um 3 Titerstufen.
Der Abfall um 3 Titerstufen sollte ausreichend sein, um den Therapieerfolg am Einzeltier verfolgen zu können.
Ist ein deutlicher Titerabfall nicht eingetreten, sollte an eine Neuinfektion, eine Rückbesiedlung aus extravaskulären Räumen oder an eine Trypanozidresistenz gedacht werden.

Für epidemiologische und Verlaufsuntersuchungen sollten Seren auf trypanosomen-spezifische Antikörper beider Immunglobulinklassen untersucht werden.
Während hohe Antikörpertiter in beiden Klassen auf eine patente Infektion hinweisen und ein hoher IgG- aber niedriger IgM-Antikörpertiter eine postpatente Infektion andeuten, sind niedrige Antikörpertiter beider Klassen auf unspezifische Reaktionen zurückzuführen oder aber als Ausdruck einer weit zurückliegenden postpatenten Infektion zu werten.

Absolute Aussagen werden auch dann nicht immer möglich sein, es wird immer Grenzfälle geben, jedoch wird unter Einbeziehung

der IgM-Antikörpertiter ein genaueres Bild über die wirkliche Infektionslage möglich.

Allgemein wird darum für Felduntersuchungen der Nachweis von trypanosomen-spezifischen Antikörpern beider Klassen in Verbindung mit einer parasitologischen Nachweistechnik (HCT) empfohlen.

Ob mit monoklonalen Antikörpern ein Antigennachweis in den Seren der experimentellen Untersuchung möglich ist, und ob mit dieser Methodik die Empfindlichkeit in der Serodiagnose erhöht werden kann, bleibt abzuklären.

Die sich aus diesen Untersuchungen insgesamt ergebenden neuen Arbeitsschwerpunkte werden abschließend wie folgt umrissen:

1. Überprüfung des Therapieerfolgs mit der beschriebenen Technik im Feld.
2. Produktion poly- und monoklonaler Antikörper gegen T.evansi Plasmamembranantigene und ihre Anwendung zum Nachweis und zur Identifizierung von zirkulierendem trypanosomalem Antigen als verbesserte Methode in der Serodiagnose.
3. Untersuchung der VSA-spezifischen Immunantwort im Serum und im Liquor.
4. Charakterisierung der Kamel-Immunglobulin-G-Subklassen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Bei 13 experimentell mit Trypanosoma evansi-infizierten Kamelen (Camelus dromedarius) wurde der Therapieerfolg über den Verlauf trypanosomen-spezifischer Antikörperspiegel der IgG- und IgM-Klasse im Serum und Liquor cerebrospinalis überprüft.

Kamele wurden mit einem Suramin (Naganol^{R}, BAYER) und Melarsoprol (Arsobal^{R}, SPECIA) empfindlichen T.evansi Klon infiziert. Die Kamele wurden 8 Wochen nach der Infektion behandelt. Fünf Kamele mit Arsobal, einem liquorgängigen Trypanozid und fünf Kamele mit Naganol, einem nichtliquorgängigen Trypanozid. Liquor cerebrospinalis wurde vor und nach der Infektion durch Postokzipitalpunktion entnommen.

Kamel-Immunglobulin-G und -M wurden an DEAE-52-Zellulose und Sepharsoe 6B chromatographiert und weiter über Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) gereinigt.
Für die Gewinnung der Antiseren wurden Kaninchen mit den isolierten Immunglobulinen immunisiert. Die zu konjugierenden Immunglobulin-G-Fraktionen der Kaninchen-Immunseren wurden in der Affinitätschromtographie mit Protein A-Sepharose CL-4B isoliert.

Zum Nachweis von trypanosomen-spezifischen Antikörpern der Immunglobulin-G- und -M-Klasse im Serum und Liquor wurde der ELISA eingesetzt. Die ELISA-Platten wurden mit einem Extraktantigen von T.evansi beschichtet.

Der parasitologische Befund und die hämatologische Reaktion sowie Immunantwort auf die Infektion und Therapie wurde graphisch dargestellt.

Folgende Schlußfolgerungen werden gezogen:

1. Bei T.evansi-infizierten Kamelen kam es innerhalb von 4 Wochen zu einer Besiedlung des Liquor cerebrospinalis (CSF).
2. Nur nach der Behandlung mit Naganol kam es in zwei Kamelen (2/8) zu einer erneuten Manifestierung einer Parasitämie (Relapse). Diese Parasitämien wurden ohne eine weitere Chemotherapie eliminiert.
3. Arsobal erwies sich als Trypanozid bei der Behandlung Trypanosoma evansi-infizierter Kamele ebenso effektiv wie Naganol.
4. Im Serum und im Liquor konnten trypanosomen-spezifische Antikörper nachgewiesen werden. Fraglich bleibt, ob die Liquor-Antikörper in situ produziert wurden.
5. Die ELISA eignet sich über den Nachweis trypanosomen-spezifischer Antikörper beider Immunglobulinklassen im Serum für die Überprüfung des Therapieerfolgs. Nach der trypanoziden Chemotherapie kam es in den Seren in 90 Tagen zu einem deutlichen Titerabfall in der IgM-Klasse.

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the capacity of immunological methods to differentiate between successful and unsuccessful treatment of Trypanosoma evansi infections in camels (Camelus dromedarius).
The micro-ELISA was employed throughout the study as the technique for semi-quantitative estimation of IgG- und IgM antibodies in serum and cerebrospinal fluid (CSF).

Thirteen camels were infected with a Suramin (Naganol^{R}, BAYER) and Melarsoprol (Arsobal^{R}, SPECIA) sensitive T.evansi clone.
Ten camels were treated 8 weeks after infection. CSF-samples were taken before infection, 4 and 9 weeks post infection and subsequently on 2 occasions 2 months apart.
CSF was removed at the cisterna magna at the atlanto-occipital-articulation. All CSF-samples were examined for trypanosomes by HCT, inoculation into irradiated mice and cytospin.

Camel IgG and IgM were isolated by DEAE 52 and Sepharose 6B chromatography and purified by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Antisera to IgG and IgM were prepared in rabbits. The IgG fraction of the antisera was isolated on Protein A-Sepaharose 6B and conjugated with horseradisch peroxidase.

The micro-ELISA was used to determine antibody levels in serum and CSF. Crud trypanosomal antigen was prepared and flat bottom micro-ELISA plates were coated with an antigen extract.

The clinical symptoms observed during the course of infection in camels were emaciation, anaemia and oedema.
The parasitological, haematological and immunological findings are presented in graphs.

The following conclusions could be drawn:

1. There is CSF involvement.
2. Relapses occurred after chemotherapy with Naganol but not with Arsobal. However they were selfcured without further chemotherapy.
3. Arsobal which is currently not in use with regard to treatment of camel trypanosomiasis would appear in the studies described here to be as effective as Naganol in T.evansi infections in camels.
4. There is detectable antibody response in serum and CSF but it is not clear whether the antibody in CSF is produced *in situ*.
5. The ELISA technique described here is suitable for serodiagnosis.

6 LITERATURVERZEICHNIS*

ABDELGADIR, S.E., A.G.A. WAHBI, O.F. IDRIS (1984): A note on the haematology of adult Sudanese dromedaries. Proceedings of the Khartoum workshop on camels. December 1979. In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 444-448.

ABDEL-GHAFFAR, M. (1960): El-Debab: A new indicator for its detection. Proc. 1st. Ann.Vet.Congr., Cairo, 307-313.

ALIM, K.A. (1976): The livestock and meat industry in Egypt. Wld.Rev.Anim.Prod. 12, 59-68.

ANOSA, V.O., T.T. ISOUN (1980): Haematological studies on Trypanosoma vivax infektion in goats and intact and splenectomised sheep. J.Comp.Pathol. 90, 155-168.

ARAUJO, R.G. (1982): Detection of circulating antigen of Trypanosoma cruzi by enzyme immunoassay. Ann.trop.Med.Parasit. 76, 25-36.

ARZOUN, I.H. (1981): Studies on camel haemonchosis caused by Haemonchus longistipes in the Sudan. Ph.D.Thesis, University of Khartoum.

BALIS, J. (1977): Note on the toxicity of isometamidium via the intravenous route in some domestic mammals with special reference to the dromedary. Rev.Elev.Méd.Vét.Pays Trop. 30, 373-375.

* Die Zeitschriften wurden abgekürzt nach:

World list of scientific periodicals, published in the years 1900 - 1968., 4. Auflage, hrsg. von Peter Brown und Georg Burder Stratton, Volume 1-3, London, Butterworths, 1965.

World list of scientific periodicals, new periodical titles 1960 - 1968, hrsg. von Kenneth I. Porter und C.J. Koster, London, Butterworths, 1970.

List of journals indexed in index medicus 1986, National Library of Medicine, U.S. Department of Health and Human Services, Bethesda, Maryland, 1986.

BANERJEE, S., R.C. BHATTACHARJEE, T.I. SINGH (1962): Hematological studies in the normal adult Indian camel (Camelus dromedarius).
American J.Physiol. 203, 1185-1187.

BANCROFT, G.J., B.A. ASKONAS (1985): Immunobiology of african trypanosomes in laboratory rodents.
In: Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis, I. Tizard, CRC Press, Boca Raton, Florida, 75-101.

BARRY, J.D., H. GATHUO (1984): Antigenic variation in Trypanosoma vivax: Isolation of a serodeme.
Parasitology 89, 49-58.

BENACERRAF, B., E.R. UNANUE (1982): Immunologie: Ein Kurzlehrbuch.
Walter de Gruyter, Berlin-New York.

BENNETT, S.C.J. (1929): The mercuric chloride test for trypanosomiasis in camels.
J.Comp.Path.Therap. 42, 118-126.

BENNETT, S.C.J. (1933): The control of camel trypanosomiasis.
J.Comp.Path.Therap. 46, 67-77.

BENNETT, S.C.J., P.A.C. KENNY (1928): Mercuric chloride as a diagnostic agent for trypanosomiasis in camels.
J.Comp.Path.Therap. 41, 341-358.

BHATIA, J.S., A.K. GOSHAL, U.K. VYAS (1971): Collection and examination of cerebrospinal fluid (CSF) in camels suffering from kumri.
Indian Vet.J. 48, 796-798.

BIDWELL, D.E., A. VOLLER (1981): Malaria diagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay.
Br.Med.J. 282, 1747-1748.

BOID, R., A.G. LUCKINS, P.F. RAE, A.R. GRAY, M.M. MAHMOUD, K.H. MALIK (1980): Serum immunoglobulin levels and electrophoretic patterns of serum proteins in camels infected with Trypanosoma evansi.
Vet.Parasit. 6, 333-345.

BOID, R., E.A. EL AMIN, M.M. MAHMOUD, A.G. LUCKINS (1981): Trypanosoma evansi infections and antibodies in goats, sheep and camels in the Sudan.
Trop.Anim.Hlth Prod. 13, 141-146.

BOID, R., T.W. JONES, A.G. LUCKINS (1985): Protozoal diseases of camels.
In: The camel in health and disease. A.J. Higgins, Br.Vet.J. 141, 87-105.

BOREHAM, P.F.L. (1985): Autocoids: Their release and possible role in the pathogenesis of African trypanosomiasis.
In: Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis. I. Tizard (Ed.), CRS Press, Boca Raton, Florida, 45-66.

BOUE, A. (1949): Essai de barymétrie chez la dromedaire Nord-africain.
Rev.Elev.Méd.Vét,Pays Trop. 3, 13-16.

BREMAUD, O. (1969): ILCA. Notes sur l'élévage camelin dans les districts du nord de la République du Kenya.
Rapport I.E.M.V.T., Maisons-Alfort, France.

BUYST, H. (1975): The treatment of Trypanosoma rhodesiense sleeping sickness, with special reference to its physio-pathological and epidemiological basis.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 55, 95-104.

CLARKSON, M.J., W.J. PENHALE, R.B. McKENNA (1975): Progressive serum protein changes in experimental infections of calves with Trypanosoma vivax.
J.Comp.Path. 85, 397-410.

COLES, E.H. (1980): Cerebrospinal fluid.
In: Veterinary Clinical Pathology, E.H. Coles (Ed.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 362-376.

CROSS, H.E. (1917): The camel and its diseases: being notes for veterinary surgeons and commandants of camel corps.
Baillière, Tindall & Cox, London.

CURASSON, G. (1947): Le chameau et ses maladies.
Vigot frères, Paris.

DAHL, G., A. HJORT (1984): Dromedary pastoralism in Africa and Arabia. Proceedings of the Khartoum workshop on camels. December 1979.
In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 144-160.

DAVIS, B.J. (1964): Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 121, 404-427.

DELANK, H.W. (1975): Klinische Relevanz der IgG-Bestimmung im Liquor cerebrospinalis.
Laborblätter 25, 150-165.

DUMAS, M., J.C. BRETON, M. PESTRE-ALEXANDRE, J.A. NICOLAS, G. CATAZANO (1983): Réflexions sur le traitement de la trypanosomiase humaine africaine.
Bull.Soc.Path.Ex. 76, 622-627.

ENGVALL, E., P. PERLMANN (1972): Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.
J.Immunol. 109, 129-135.

EVANS, J.O., J.G. POWYS (1984): Camel husbandry in Kenya: Increasing the productivity of ranchland. Proceedings in the Khartoum workshop on camels. December 1979.
In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 347-357.

FAO-PRODUCTION YEARBOOK (1982),
Rome, Vol. 36, 214-216.

FAZIL, M.A. (1977): The camel.
Bull.Anim.Hlth.Prod.Afr. 25, 435-442.

FIELD, C.R. (1984): Camel growth and milk production in Marsabit district, Northern Kenya. Proceedings of the Khartoum workshop on camels. December 1979.
In: The camelid. Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 209-229.

FINK, E., H. SCHMIDT (1979): Meningoencephalitis in chronic Trypanosoma brucei rhodesiense infection of the white mouse.
Tropenmed.Parasit. 30, 206-211.

FINK, E., P. SAYER, H. SCHMIDT (1983): IgG and IgM-levels in serum and CSF of T.rhodesiense infected Vervet Monkeys.
Contr.Microbiol.Immunol. 7, Basel, 183-189.

FREEMAN, T., S.R. SMITHERS, G.A.T. TARGETT, P.J. WALKER (1970): Specificity of immunoglobulin G in Rhesus monkeys infected with Schistosoma mansoni, Plasmodium knowlesi and Trypanosoma brucei.
J.infect.Dis. 121, 401-406.

GAUTHIER-PILTERS, H., H.I. DAGG (1981): The camel: Its evolution, ecology, behavior, and relationship to man. The University of Chicago Press, Chicago, London.

GEILER, B. (1984): Individueller und tierartbedingter Einfluß auf die Antigenvarianz von Trypanosoma evansi (STEEL, 1885). Vet.-med.Diss., FU Berlin.

GHODSIAN, I., I. NOWROUZIAN, H.F. SCHELS (1978): A study of some haemotological parameters in the Iranian camel. Trop.Anim.Hlth.Prod. 10, 109-110.

GIBSON, W.C., T.F. DE C. MARSHALL, D.G. GODFREY (1980): Numerical analysis of enzyme polymorphism: A new approach to the epidemilogy and taxonomy of trypanosomes of the subgenus trypanozoon. Adv.Parasitol. 18, 175-246.

GIBSON, W.C., A.J. WILSON, S.K. MOLO (1983): Characterisation of Trypanosoma (Trypanozoon) evansi from camels in Kenya using isoenzyme electrophoresis. Res.vet.Sci. 34, 114-118.

GILL, B.S., D.K. SEN (1971): Studies on Surra. VI: Therapeutic activity of Mel B, Diminazene and 'Te85' in the equine infection (Trypanosoma evansi). Indian J.Anim.Sci. 41, 743-746.

GODFREY, D.G., R. KILLICK-KENDRICK (1962): Trypanosoma evansi of camels in Nigeria: High incidence demonstrated by the inoculation of blood into rats. Ann.Trop.Med.Parasit. 56, 14-19.

GOUDSWAARD, J., J.A. VAN DER DONK, A. NOORDZIJ, R.H. VAN DAM, J.-P. VAERMAN (1978): Protein A reactivity of varius mammalian immunoglobulins. Scand.J.Immunol. 8, 21-28.

GRAY, G.D., F.W. JENNINGS, S.L. HAJDUK (1982): Relapse of monomorphic Trypanosoma brucei infections in the mouse after chemotherapy. Z.Parasitenkd. 67, 137-145.

GREENWOOD, B.M. (1974): Possible role of a B-cell mitogen in hypergammaglobulinaemia in malaria and trypanosomiasis. Lancet i, 435-436.

GREENWOOD, B.M., H.C. WHITTLE (1973): Cerebrospinal IgM in patients with sleeping-sickness. Lancet ii, 525-527.

GREENWOOD, B.M., H.C. WHITTLE (1980): The pathogenesis of sleeping-sickness.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 74, 716-725.

HÄRTER, G.H., D. RÖTTCHER, D. SCHILLINGER, E. ZWEYGARTH (1985): Experimentelle Nagana-Infektionen beim Kamel (Camelus dromedarius).
Berl.Münch.Tierärztl.Wochenschr. 98, 346-350.

HAMERS, R. (1984): New perspectives in the control of Trypanosoma evansi infection.
Minutes of the second International Meeting on Trypanosoma evansi held in Paris, Appendix IV, Office International des Epizooties (O.I.E.), Pairs, France, 23.05.1984.

HAWKEY, C.M. (1975): Comparative mammalian haematology.
William Heinemann Medical Books, London.

HIGGINS, A.J. (1983): Observations on the diseases of the arabian camel (Camelus dromedarius) and their control - A review.
Vet.Bull. 53, 1089-1100.

HIGGINS, A.J., R.A. KOCK (1984): A guide to the clinical examination, chemical restraint and medication of the camel.
Br.vet.J. 140, 485-504.

HOARE, C.A. (1956): Morphological and taxonomic studies on mammalian trypanosomes. VIII. Revision of Trypanosoma evansi.
Parsasitology 46, 130-172.

HOARE, C.A. (1957): The spread of african trypanosomes beyond their natural range.
Z.Tropenmed.Parasit. 8, 157-161.

HOARE, C.A. (1967): Evolutionary trends in mammalian trypanosomes.
Adv.Parasitol. 5, 47-91.

HÖLLER, H., Y.M. HASSAN (1966): Bestimmung einiger Blutbestandteile bei Kamelen im Sudan.
Dt.tierärztl.Wschr. 73, 553-556.

HÖRCHNER, F., A. SCHÖNEFELD, B. WÜST (1983): Experimental infection of horses with Trypanosoma evansi. 1. Parasitological and clinical results.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 63, 127-135.

HÖRCHNER, F., J.S. AHMED, B. GEILER (1984): Antigenic Variation of Trypanosoma evansi in rabbits.
Tropenmed.Parasit. 35, 242-246.

HOMEIDA, A.M., E.A. EL AMIN, S.E.I. ADAM, M.M. MAHMOUD (1981): Toxicity of diminazene aceturate (Berenil) to camels.
J.Comp.Path. 91, 355-360.

HOUBA, V., K.N. BROWN, A.C. ALLISON (1969): Heterophile antibodies, M-antiglobulins and immunoglobulins in experimental trypanosomiasis.
Clin.exp.Immun. 4, 113-123.

HOWELLS, R.E. (1985): The modes of action of some anti-protozoal drugs.
Parasitology 90, 687-703.

ILRAD (International Laboratory for Research on Animal Diseases) (1985): Annual report 1984.
Nairobi, ILRAD.

JAMES, D.M. (1978): Prophylactic activity in rodents of trypanocides complexed with dextran.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 72, 471-476.

JATKAR, P.R., M.S. PUROHIT (1971): Pathogenesis of anaemia in Trypanosoma evansi infection. Part 1: Haematology.
Indian vet.J. 48, 239-244.

JATKAR, P.R., A.K. GHOSAL, M. SINGH (1973): Pathogenesis of anaemia in Trypanosoma evansi infection. Part 3: Studies on serum proteins.
Indian vet.J. 50, 634-636.

JENKINS, G.C., C.A. FACER (1985): Hematology of african trypanosomiasis.
In: Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis, I. Tizard, CRC Press, Boca Ration, Florida, 13-44.

JENNINGS, F.W., D.D. WHITELAW, P.H. HOLMES, H.G.B. CHIZYUKA, G.M. URQUHART (1979): The brain as a source of relapsing Trypanosoma brucei infection in mice after chemotherapy.
Int.J.Parasitology 9, 381-384.

KALTENBACH, A. (1954): Das Leukozytenbild bei natürlicher und experimenteller Surra-Infektion.
Z.Tropenmed.Parasit. 5, 96-108.

KEEVILL, A.J. (1928): Trypanosoma rhodesiense infection treated with 'Bayer 205' of 'Fourneau 309'.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 22, 83-84.

KELLY, S., D. SCHILLINGER (1983): Improved field diagnostic technique for trypanosomiasis by use of a minicentrifuge.
Vet.Rec. 113, 219.

KOBAYASHI, A., I.R. TIZARD (1976): The response to Trypanosoma congolense infections in calves: Determination of immunoglobulins IgG_1, IgG_2, IgM and C3 levels and the complement fixing antibody titres during the course of infection.
Tropenmed.Parasit. 27, 411-417.

KOCH, R. (1909): Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Schlafkrankheit im Jahre 1906/07 nach Ostafrika entsandten Kommission.
Springer Verlag, Berlin.

KNOWLES, R.H. (1927a): Trypanosomiasis of camels in the Anglo-egyptian Sudan: Diagnosis, chemothrapy, immunity. Part 1.
J.Comp.Path.Ther. 40, 59-71.

KNOWLES, R.H. (1927b): Trypanosomiasis of camels in the Anglo-egyptian Sudan: Diagnosis, chemotherapy, immunity, Part 2.
J.Comp.Path.Ther. 40, 118-143.

KRANEVELD, F.C., R. DJAENOEDIN (1949): Enige Gegevens over het moment van binnendringen van Trypanosoma evansi in de cerebrospinaalvloeistof bij paarden.
Hemera Zoa 56, 39-45.

LABOHM, R. (1982): B-, T- und O-Zellen im Verlaufe experimenteller Trypanosoma congolense (BRODEN, 1904)-Infektionen bei verschiedenen Rinderrassen (BOS TAURUS, BOS INDICUS) in Togo.
Vet.-med.Diss., FU Berlin.

LANHAM, S.M., D.G. GODFREY (1970): Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose.
Exp.Parasitol. 28, 521-534.

LEACH, T.M. (1961): Observations on the treatment of Trypanosoma evansi infection in camels.
J.Comp.Path. 71, 109-117.

LEESE, A.S. (1927): A treatise on one-humped camels in health and disease.
Haynes Publ., Stanford (UK).

LOPPNOW, H. (1979): Zur Pathologie der experimentellen Trypanosoma evansi-Infektion beim Pferd.
Referat anläßlich der 183. Sitzung der Berliner Gesellschaft für Pathologie, 10.04.1979, Berlin.

LUCKINS, A.G. (1977): Detection of antibodies in trypanosome-infected cattle by means of a micro plate enzyme-linked immunosorbent assay.
Trop.Anim.Hlth Prod. 9, 53-62.

LUCKINS, A.G., R. BOID, P. RAE, M.M. MAHMOUD, K.H. EL MALIK, A.R. GRAY (1979): Serodiagnosis of infection with Trypanosma evansi in camels in the Sudan.
Trop.Anim.Hlth Prod. 11, 1-12.

LUCKINS, A.G., A.R. GRAY, P. RAE (1978): Comparison of the diagnostic value of serum immunglobulin levels, an enzyme-linked immun sorbent assay and a fluorescent antibody test in experimental infections with Trypanosoma evansi in rabbits.
Ann.trop.Med.Parasit. 72, 429-441.

LUCKINS, A.G., D. MEHLITZ (1976): Observations on serum immunglobulin levels in cattle infected with Trypanosoma brucei, Trypanosoma vivax and Trypanosoma congolense.
Ann.trop.Med.Parasit. 70, 479-480.

LUCKINS, A.G., D. MEHLITZ (1978): Evaluation of an indirect fluorescent antibody test, enzyme-linked immunosorbent assay and quantification of immunoglobulins in the diagnosis of bovine trypanosomiasis.
Trop.Anim.Hlth Prod. 10, 149-159.

LUMSDEN, W.H.R., C.D. KIMBER, D.A. EVANS, S.J. DOIG (1979): Trypanosoma brucei: miniature anion-exchange centrifugation technique for detection of low parasitaemias: adaption for field use.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 73, 312-317.

LUMSDEN, W.H.R., C.D. KIMBER, P. DUKES, L. HALLER, A. STANGHELLINI, G. DUVALLET (1981): Field diagnosis of sleeping sickness in the Ivory Coast. 1. Comparison of the miniature anion-exchange/centrifugation technique with other protozoological methods.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 75, 242-250.

MACKENZIE, P.K.I., J.G. CRUICKSHANK (1973): Phagocytosis of erythrocytes and leucocytes in sheep infected with Trypanosoma congolense.
Res.Vet.Sci. 15, 256-262

MAGNUS, E., T. VERVOORT, N. VAN MEIRVENNE (1978): A card-agglutination test with stained trypanosomoes (C.A.T.T.) for the serological diagnosis of T.b. gambiense trypanosomiasis.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 58, 169-176.

MAHMOUD, A.H., K.A. LATIF (1957): Treatment of camel trypanosomiasis with suramin, antimosan and their combination.
Vet.Med.J.Giza 4, 109-122.

MAHMOUD, M.M., M.O. OSMAN (1984): A note on trypanosomiasis in sudanese camels.
Proceedings of the Khartoum workshop on camels. December 1979. In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 502-508.

MANCINI, G., A.O. CARBONARA, J.F. HEREMANS (1965): Immunochemical quantitations of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochemistry 2, 235-251.

MANSFIELD, J.M. (1981): Immunology and immunopathology of african trypanosomiasis.
In: Parasitic Diseases. Vol. 1. The Immunology. J.M. Mansfield (Ed.), Marcel Dekker, New York, 167-226.

MASAKE, R.A., A.J. MUSOKE, V.M. NANTULYA (1983): Specific antibody responses to the variable surface glycoproteins of Trypanosoma congolense in infected cattle.
Parasite Immun. 5, 345-355.

MASAKE, R.A., V.M. NANTULYA, G.W.O. AKOL, A.J. MUSOKE (1984): Cerebral trypanosomiasis in cattle with mixed Trypanosoma congolense and Trypanosoma brucei infections.
Acta trop. 41, 237-246.

MASON, F.E. (1911): Note on the camel trypanosomiasis of Egypt, and results of first series of experimental drug treatment.
J.Comp.Path.Ther. 24, 47-59.

MATTERN, P. (1964): Techniques et intérêt épidémiologique du diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine par la recherche de la β_2 macroglobuline dans le sang et le LCR.
Ann.Inst.Pasteur 107, 415-421.

MATTERN, P. (1968): Etat actuel et résultats des techniques immunologiques utilisées à l'Institut Pasteur de Dakar pour le diagnostic et l'étude de la trypanosomiase humaine africaine.
Bull.Wld Hlth Org. 38, 1-8.

MEHLITZ, D. (1975): Serologische Untersuchungen zur Subgenus-Differenzierung und zur Antikörperpersistenz nach Trypanosomeninfektionen.
Tropenmed.Parasit. 26, 265-275.

MEIRVENNE, N. VAN, P.G. JANSSENS, E. MAGNUS (1975): Antigenic variation in syringe-passaged populations of Trypanosoma (Trypanozoon) brucei. II. Comparative studies on two antigenic-types collections.
Ann.Soc.belge Méd.trop. 55, 25-30.

MESHNICK, S.R. (1981): The chemotherapy of africain trypanosomiasis.
In: Parasitic Diseases. Vol. 2. The Chemotherapy. J.M. Mansfield (Ed.), Marcel Dekker, New York, 165-199.

MEYER, H.H., R. GOTTLIEB (1933): Die Experimentelle Pharmokologie als Grundlage der Arzneibehandlung.
Urban & Schwarzenberg, 8. Aufl., Berlin/Wien.

MORRISON, W.I., M. MURRAY, D.D. WHITELAW, P.D. SAYER (1983): Pathology of infection with Trypanosoma brucei: Disease syndromes in dogs and cattle resulting from severe tissue damage.
Contr.Microbiol.Immunol. 7, 103-119.

MORRISON, W.I., M. MURRAY, G.W.O. AKOL (1985): Immunresponse of cattle to african trypanosomes.
In: Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis. I. Tizard (Ed.), CRS Press, Boca Raton, Florida, 103-131.

MOTT, F.W. (1899): The changes in the central nervous system of 2 cases of negro lethargy: sequel to Dr. Manson's clinical report.
Br.med.J. (ii), 1666.

MOTT, F.W. (1906): Histological observations on sleeping sickness and other trypanosome infections.
Reports of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society 7, 3.

MULLIGAN, H.W. (1970): The African Trypanosomiases.
George Allen and Unwin, London.

MURRAY, M., W.I. MORRISON, D.L. EMERY, G.W.O. AKOL, R.A. MASAKE, S.K. MOLOO (1980): Pathogenesis of Trypanosome infections in cattle.
In: Isotope and radiation research on animal diseases and their vectors, IAEA, Wien, 15-33.

MURRAY, P.K., M. MURRAY, M. WALLACE, W.I. MORRISON, W.I.M. McINTYRE (1977): Trypanosomiasis in Ndama and Zebu cattle. An experimental investigation of susceptibility to Trypanosoma brucei, Trypanosoma congolense and mixed infections.
In: International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, 15th meeting OAU/STRC, Banjul, Gambia, 470-481.

MUSOKE, A.J., V.M. NANTULYA, A.F. BARBET, F. KIRONDE, T.C. McGUIRE (1981): Bovine immune response to african trypanosomes: specific antibodies to variable surface glycoproteins of Trypanosoma brucei.
Parasite Immun. 3, 97-106.

NAKANE, P.K., A. KAWAOI (1974): Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation.
J.Histochem.Cytochem. 22, 1084-1091.

NANTULYA, V.M., J.J. DOYLE (1977): Stabilisation and preservation of the antigenic specificity of Trypanosoma (Trypanozoon) brucei variant specific surface antigens by mild fixation techniques.
Acta trop. 34, 313-320.

NIELSEN, K., J. SHEPPARD, W. HOLMES, I. TIZARD (1978a): Experimental bovine trypanosomiasis. Changes in the catabolism of serum immunoglobulins and complement components in infected cattle.
Immunology 35, 811-816.

NIELSEN, K., J. SHEPPARD, W. HOLMES, I. TIZARD (1978b): Experimetal bovine trypanosomiasis. Changes in serum immunglobulins, complement and complement components in infected animals.
Immunology 35, 817-827.

OUCHTERLONY, O. (1959): Diffusion-in-gel methods for immunological analysis.
In: Progress in allergy. P. Kallos (Ed.), Karger, Basel/New York, 1-78.

PEGRAM, R.G., J.M. SCOTT (1976): The prevalence and diagnosis of Trypanosoma evansi infection in camels in southern Ethiopia.
Trop.Anim.Hlth Prod. 8, 20-27.

PERUZZI, M. (1928): Pathological-, anatomical- und serological observations on the trypanosomiases.
Final report League of Nations International Commission on human trypanosomiasis, Geneva, 245-324.

PETERSON, E.A., H.A. SOBER (1956): Chromatography of proteins. I. Cellulose ion-exchange adsorbents.
J.Am.Chem.Soc. 78, 751-755.

PETROVSKIJ, V.V. (1974): Problemes actuels des Trypanosomes.
Veterinaya 5, 68-70.

PHARMACIA FINE CHEMICALS (1983): Ion exchange chromatography. Principles and methods.
Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden.

POLTERA, A.A. (1980): Immunopathological and chemotherapeutic studies in experimental trypanosomiases with special reference to the heart and brain.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 74, 706-715.

POLTERA, A.A. (1983): Chemotherapy, relapses and CNS in experimental african trypanosomiases.
Contr.Microbiol.Immunol. 7, 155-164.

RAE, P.F., A.G. LUCKINS (1984): Detection of circulating trypanosomal antigens by enzyme immuno assay.
Ann.trop.Med.Parasit. 78, 587-596.

RAISINGHANI, P.M., K.R. LODHA (1980): Chemotherapeutic levels of Berenil (Hoechst) in experimental surra in camel.
Indian vet.J. 57, 891-895.

RAISINGHANI, P.M., K.R. LODHA, J.S. BHATIA, P.K. DWARKNATH, U.K. VYAS (1981): Note on some haematological and biochemical studies in experimental surra in camel.
Indian J.Anim.Sci. 51, 1108-1112.

RICHARD, D. (1975): Etude de la pathologie du dromadaire dans la sous-province du Borana (Ethiopie).
Thèse Doct.vét., Paris.

ROELANTS, G.E., M. PINDER (1984): Immunobiology of african trypanosomiasis.
In: Immunobiology of parasites and parasitic infections, J.J. Marchalonis (Ed.), Contemp.Top.Immunobiol. 12, 225-274.

ROSENBERGER, G. (1977): Die klinische Untersuchung des Rindes. Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg.

RUITENBERG, E.J., J. BUYS (1977): Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of human african trypanosomiasis (sleeping sickness).
Am.J.Trop.Med.Hyg. 26, 31-36.

RUTTER, T.E.G. (1967): Diseases of camels. Part 2: Protozoal diseases.
Vet.Bull. 37, 611-618.

SACHS, R. (1984): The superiority of the miniature anion-exchange centrifugation technique for detecting low grade trypanosome parasitaemias.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 78, 694-696.

SADUN, E.H., R.E. DUXBURY, J.S. WILLIAMS, R.J. ANDERSON (1963): Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of african and american trypanosomiasis in man.
J.Parasit. 49, 385-388.

SANDER, L., D. HENNIG (1906): Tropische und subtropische Viehseuchen.
In: Handbuch der Tropenkrankheiten, C. Mense (Hrsg.), 3. Bd., Leipzig, Johann Ambrosius Barth., 689-780.

SCHEIDEGGER, J.J. (1955): Une micro-méthode de l'immune-électrophorèse.
Int.Arch.Allergy 7, 103-110

SCHILLINGER, D., K.J. CHERUIYOT, R.J. CONNOR, W.M. KARANJA, S.H. MALOO, D. RÖTTCHER (1985b): Comparative prophylactic and local tolerance trial using isometamidium chloride and isometamidium chloride/dextran sulphate complex.
18th Meeting, I.S.C.T.R.C., Harare, Zimbabwe.

SCHILLINGER, D., S.H. MALOO, D. RÖTTCHER (1984): Trypanosoma evansi-Endemie in Dromedarherden Kenias. Arzneimittelresistenz und Chemotherapie.
In: Tropenmedizin, Parasitologie. J. Boch (Hrsg.), (Medizin in Entwicklungsländern; 16), Verlag Peter Lang, Frankfurt, Bern, New York, 41-47.

SCHILLINGER, D., S.H. MALOO, D. RÖTTCHER (1985a): The toxic effect of intravenous application of the trypanocide isometamidium (Samorin).
Zbl.Vet.Med. 32, 234-239.

SCHILLINGER, D., D. RÖTTCHER (1984): The current state of chemotherapy of Trypanosoma evansi infection in camels. Proceedings of the Kartoum workshop on camels. December 1979. In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 509-518.

SCHMIDT, H. (1983): The pathogenesis of trypanosomiasis of the CNS.
Virchows Arch.path.Anat.Physiol. 399, 333-343.

SCHMIDT-NIELSEN, K., B. SCHMIDT-NIELSEN, S.A. JARNUM, T.R.I. HOUPT (1957): Body temperature of the camel and its relation to water economy.
Amer.J.Physiol. 188, 103-112.

SCHÖNEFELD, A. (1979): Parasitologischer, klinischer und Serumtiterverlauf bei mit Trypanosoma evansi (STEEL, 1885) infizierten Ponys.
Vet.-med.Diss., FU Berlin

SCHWARTZ, H.J., A.J. WILSON, R. DOLAN, J.O. EVANS, J. FAIRHALL (1982): Produktionsleistungen von Kamelen (Camelus dromedarius) in ausgewählten Gebieten Kenias.
Prakt.Tierarzt 11, 964-989.

SEILER, R.J., S. OMAR, A.R.B. JACKSON (1981): Meningoencephalitis in naturally occuring Trypanosoma evansi infection (Surra) of horses.
Vet.Path. 18, 120-122.

SEPPÄLÄ, I., H. SARVAS, F. PETERFY, O. MÄKELÄ (1981): The four subclasses of IgG can be isolated from mouse serum by using Protein A-Speharose.
Scand.J.Immunol. 14, 335-342.

SHALASH, M.R. (1984): The production and utilization of camel meat.
Proceedings of the Khartoum workshop on camels. December 1979. In: The camelid, Vol. 1, W.R. Cockrill, Uppsala, 231-247.

SMITH, I. (1976): Acrylamide gel disc electrophoresis.
In: Chromatographic and electrophoretic techniques. I. Smith (Ed.), Heinemann Medical Books LTD., London.

SOLIMAN, M.K., S. EL AMROUSI, L.B. YOUSSEF (1966): Studies on the normal cerebrospinal fluid of healthy camels.
Indian J.Vet.Sci. 36, 40-44.

SONI, B.K., A.C. AGARWALA (1958): Studies in the physiology of the camel (Camelus dromedarius). Part 1: Cellular blood constituents.
Indian vet.J. 35, 209-214.

SPENCER, P. (1973): Nomads in alliance: Symbiosis and growth among the Rendille and Samburu of Kenya.
Oxford University Press, London.

TIBBLING, G., H. LINK, S. ÖHMAN (1977): Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values.
Scand.J.clin.Lab.Invest. 37, 385-390.

TOURATIER, L. (1986): Fourth international meeting on Trypanosoma evansi: Report of the working group. Paris, 22. May 1985.
Rev.sci.tech.Off.int.Epiz. 5, 207-213.

VOLLER, A., D.E. BIDWELL, A. BARTLETT (1975): A serological study on human Trypanosoma rhodesiense infections using a microscale ELISA.
Tropenmed.Parasit. 26, 247-251.

WHITELAW, D.D., J.E. MOULTON, W.I. MORRISON, M. MURRAY (1985): Central nervous system involvement in goats undergoing primary infections with Trypanosoma brucei and relapse infections after chemotherapy.
Parasitology 90, 255-268.

WILLIAMSON, J. (1976): Chemotherapy of african trypanosomiasis.
Trop.Dis.Bull. 73, 531-542.

WILSON, M.B., P.K. NAKANE (1978): Recent developments in the periodate method of conjugating horseradisch peroxidase (HRPO) to antibodies.
In: Immunofluorescence and related staining techniques. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, W. Knapp, K. Holubar, G. Wick (Ed.), 215-224.

WOO , P.T.K. (1970): The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of african trypanosomiasis.
Acta Trop. 27, 384-386.

YUTUC, L.M. (1936): Experimental studies on curative treatment of surra in native horses in the Philippines.
Philipp.J.Sci. 61, 401-414.

ZSCHUCKE, J. (1932): Beitrag zur Kenntnis der Schlafkrankheit in den westafrikanischen Küstengebieten.
Z.Hyg.Infekt.Krankh. 114, 464-500.

ZWART, D. (1986): Epidemiology and pathogenesis of trypanosomiasis.
Vortrag am Seminar für Tropenveterinärmedizin der FU-Berlin, Berlin, 18.02.1986.

ZWART, D., N.M. PERIE, A. KEPPLER, E. GOEDBLOED (1973): A comparsion of methods for the diagnosis of trypanosomiasis in east african domestic ruminants.
Trop.Anim.Hlth Prod. 5, 79-87.

ZWEYGARTH, E., C. SABWA, D. RÖTTCHER (1984): Serodiagnosis of trypanosomiasis in dromedary camels using a card agglutination test set (Testryp^{R}, CATT).
Ann.Soc.belg Méd.trop. 64, 309-313.

7 ANHANG

Angaben zu den verwendeten Reagenzien:
(soweit nicht im Text ausgeführt)

1. Phosphatpuffer-Glucoselösung (PSG), pH 8,0

$Na_2HPO_4 \times 2\ H_2O$	16,90 g
$NaH_2PO_4 \times 2\ H_2O$	0,78 g
NaCl	4,25 g

Aqua dest. ad 1000 ml
Puffer anschließend mit einer 2,5%-igen Glucose-Lösung im Verhältnis 6:4 mischen.

2. Phosphatpuffer (PBS), pH 7,2

NaCl	8,00 g
KCl	0,20 g
Na_2HPO_4	1,15 g
KH_2PO_4	0,20 g

Aqua dest. ad 1000 ml

3. Acrylamid-Stock [5%]

Acrylamid	11,1 g
Bisacrylamid	0,3 g

Aqua dest. ad 1000 ml

4. Ammoniumpersulfat-Lösung

$(NH_4)_2S_2O_8$	0,12 g

Aqua dest. ad 8 ml

Empfindlichkeit von T. evansi (Klon 1)* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) und Arsobal^{R} (Melarsoprol) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	5/5	48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	5/5	48
	1,0	5/5	48
	3,0	5/5	48

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	5/5	48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	4/5	48/14/48/48/48
	1,0	4/5	48/48/19/48/48
	3,0	5/5	48

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus
+ Beobachtungszeitraum 48 Tage

Empfindlichkeit von T. evansi (Klon 7)* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) und Arsobal^{R} (Melarsoprol) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	5/5	48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	4/5	48/48/48/20/48
	1,0	4/5	48/48/17/48/48
	3,0	5/5	48

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	5/5	48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	4/5	48/48/17/48/48
	1,0	5/5	48
	3,0	5/5	48

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus

+ Beobachtungszeitraum 48 Tage

Empfindlichkeit von T. evansi (Klon 16)* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) und Arsobal^{R} (Melarsoprol) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	4/5	48/48/48/13/48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	5/5	48
	1,0	5/5	48
	3,0	5/5	48

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	48
	10	5/5	48
	30	5/5	48
Arsobal^{R}	0,3	2/5	48/22/17/20/48
	1,0	5/5	48
	3,0	5/5	48

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus

\+ Beobachtungszeitraum 48 Tage

Empfindlichkeit der am Tag der Behandlung aus Kamel 55 isolierten Trypanosomenpopulation* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	26
	6	5/5	26
	30	5/5	26

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	26
	6	5/5	26
	30	5/5	26

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus

+ Beobachtungszeitraum 26 Tage

Empfindlichkeit der am Tag der Behandlung aus Kamel 105 isolierten Trypanosomenpopulation* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	33
	6	5/5	33
	30	5/5	33

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	33
	6	5/5	33
	30	5/5	33

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus
+ Beobachtungszeitraum 33 Tage

Empfindlichkeit der am Tag der Behandlung aus Kamel 108 isolierten Trypanosomenpopulation* gegenüber Naganol^{R} (Suramin) im Mäuse-Sensitivitätstest

A. Behandlung 6 Stunden nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	23
	6	5/5	23
	30	5/5	23

B. Behandlung 3 Tage nach der Infektion

Trypanozid	Dosierung (mg/kg Körpergewicht)	geheilte/ behandelte Tiere	für ... Tage+ im Nativpräparat negativ
Naganol^{R}	3	5/5	23
	6	5/5	23
	30	5/5	23

* Infektionsdosis 1 X 10^{5} Trypanosomen pro Maus

+ Beobachtungszeitraum 23 Tage

Die vorliegende Arbeit ist im Rahmen des Projektes "Internationale Agrarforschung" mit finanzieller Unterstützung des Bundesministeriums für Wirtschaftliche Zusammenarbeit (BMZ) entstanden. Für die Gewährung der Mittel danke ich der Deutschen Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ).

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Hörchner für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Unterstützung bei der Durchführung und Abfassung der Arbeit und Herrn Prof. Dr. J. Huhn für die Bewältigung aller administrativen Fragen. Ebenfalls danken möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU Berlin, insbesondere Frau A. Wiemann und den Herren Dres. J. S. Ahmed und A. Schönefeld, für ihre allzeit gern gewährte Hilfe bei den experimentellen Untersuchungen.

Herrn Dr. A.R. Gray danke ich als Direktor des International Laboratory for Research on Animal Diseases (ILRAD) für die Ermöglichung der Arbeit am ILRAD in Nairobi, Kenia.
Für die wissenschaftliche Betreuung am ILRAD danke ich den Herren Dres. V.M. Nantulya, D.D. Whitelaw und A.J. Musoke. Gedankt sei ferner allen Mitarbeitern der Parasitologie und der Diagnose. Meinen herzlichen Dank für die technische Hilfe an Frau C.G. Nkonge und den Herren S.H. Minja und J. Katende.
Frau Dr. G. Arndt und Herrn Dr. G. Gettinby danke ich für die statistische Beratung.

Herrn Dr. D. Röttcher danke ich als Leiter des Chemotherapy of Trypanosomiasis Research Projects (GTZ) für die Ermöglichung der experimentellen Untersuchung. Für die stets gewährte wissenschaftliche Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit gilt mein Dank Herrn Dr. D. Schillinger und allen Mitarbeitern am Projekt.

Herrn Dr. Ch. Staak und allen Mitarbeitern des Instituts für Veterinärmedizin, Fachbereich Serologie, des Bundesgesundheitsamtes Berlin, danke ich für die fachliche Beratung und Hilfe in der technischen Vorbereitung der Arbeit.

Herrn Dr. I.E. Muriithi, Director of Livestock Development of Kenya und Herrn Dr. S. Chema, Chief Veterinary Research Officer of Kenya danke ich für die Erlaubnis zur Durchführung der experimentellen Untersuchung und meiner wissenschaftlichen Tätigkeit in Kenia. Für die Bereitstellung der Kamele danke ich Herrn J. Evans.

LEBENSLAUF

Name	Peter-Henning Clausen,
Geburtsdatum	11. April 1953,
Geburtsort	Husum,
Eltern	Hans-Peter Clausen, Martina Christina Clausen, geb. van Kesteren,
1959 - 1965	Besuch der Volksschule in Hattstedt,
1965 - 1967	Besuch der Volksschule in Glücksburg,
1967 - 1968	Jugendaufbauwerk Hörnum, Grundlehrgang Metall,
1968 - 1971	Facharbeiterausbildung bei der Firma Danfoss Flensburg GmbH, Flensburg,
Januar 1971	Werkzeugmacherfacharbeiter,
1971 - 1972	Berufsaufbauschule Flensburg,
Januar 1972	Fachschulreife,
1972 - 1975	Studium an der Fachhochschule Flensburg Fachrichtung Maschinenbau (Energietechnik),
Januar 1975	Graduierung zum Ingenieur (grad.),
1975 - 1977	Entwicklungshelfer beim Deutschen Entwicklungsdienst (DED) in Tansania,
1977 - 1982	Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Hochschule Hannover,
Dezember 1982	Staatsexamen,
Januar 1983	Approbation als Tierarzt,
April - Juni 1983	Doktorand am Institut für Pflanzenbau und Tierhygiene in den Tropen und Subtropen der Georg-August-Universität Göttingen,
seit Juni 1983	Doktorand am Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU Berlin,
Jan. 1984 - Dez. 1985	Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin der FU Berlin,
Jan. 1984 - Okt. 1985	Wissenschaftlicher Aufenthalt am Chemotherapy of Trypanosomiasis Research Project (GTZ) und am International Laboratory for Research on Animal Diseases (ILRAD) in Nairobi, Kenia,
seit 15. Juni 1986	Auslandsmitarbeiter der Deutschen Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn.